This is a digital copy of a book that was preserved for generations on library shelves before it was carefully scanned by Google as part of a project to make the world's books discoverable online.

It has survived long enough for the copyright to expire and the book to enter the public domain. A public domain book is one that was never subject to copyright or whose legal copyright term has expired. Whether a book is in the public domain may vary country to country. Public domain books are our gateways to the past, representing a wealth of history, culture and knowledge that's often difficult to discover.

Marks, notations and other marginalia present in the original volume will appear in this file - a reminder of this book's long journey from the publisher to a library and finally to you.

Usage guidelines

Google is proud to partner with libraries to digitize public domain materials and make them widely accessible. Public domain books belong to the public and we are merely their custodians. Nevertheless, this work is expensive, so in order to keep providing this resource, we have taken steps to prevent abuse by commercial parties, including placing technical restrictions on automated querying.

We also ask that you:

+ *Make non-commercial use of the files* We designed Google Book Search for use by individuals, and we request that you use these files for personal, non-commercial purposes.

+ *Refrain from automated querying* Do not send automated queries of any sort to Google's system: If you are conducting research on machine translation, optical character recognition or other areas where access to a large amount of text is helpful, please contact us. We encourage the use of public domain materials for these purposes and may be able to help.

+ *Maintain attribution* The Google "watermark" you see on each file is essential for informing people about this project and helping them find additional materials through Google Book Search. Please do not remove it.

+ *Keep it legal* Whatever your use, remember that you are responsible for ensuring that what you are doing is legal. Do not assume that just because we believe a book is in the public domain for users in the United States, that the work is also in the public domain for users in other countries. Whether a book is still in copyright varies from country to country, and we can't offer guidance on whether any specific use of any specific book is allowed. Please do not assume that a book's appearance in Google Book Search means it can be used in any manner anywhere in the world. Copyright infringement liability can be quite severe.

About Google Book Search

Google's mission is to organize the world's information and to make it universally accessible and useful. Google Book Search helps readers discover the world's books while helping authors and publishers reach new audiences. You can search through the full text of this book on the web at `http://books.google.com/`

UC-NRLF
$B 240 990
QP
525
M5
1921

PRAKTIKUM DER PHYSIKALISCHEN CHEMIE

INSBESONDERE DER

KOLLOIDCHEMIE

FÜR MEDIZINER UND BIOLOGEN

VON

PROF. DR. MED. LEONOR MICHAELIS
BERLIN

MIT 32 TEXTABBILDUNGEN

BERLIN
VERLAG VON JULIUS SPRINGER
1921

Digitized by Google

·FROM·THE·
·SCIENTIFIC·LIBRARY·OF·
·JACQUES·LOEB·

BIOLOGY
LIBRARY
G

Digitized by Google

Digitized by Google

Digitized by Google

PRAKTIKUM DER
PHYSIKALISCHEN CHEMIE
INSBESONDERE DER
KOLLOIDCHEMIE

FÜR MEDIZINER UND BIOLOGEN

VON

PROF. DR. MED. LEONOR MICHAELIS
BERLIN

MIT 32 TEXTABBILDUNGEN

BERLIN
VERLAG VON JULIUS SPRINGER
1921

Digitized by Google

QP525
M5
BIOLOGY
LIBRARY
G

BIOLOGY
LIBRARY
G

Jacques Loeb

Alle Rechte, insbesondere das der Übersetzung in fremde Sprachen, vorbehalten.

Copyright 1921 by Julius Springer in Berlin.

Digitized by Google

LBC

Vorwort.

Das Interesse am Studium der physikalischen Chemie und der Kolloidchemie ist bei den Biologen und Medizinern in ständigem Wachsen begriffen. Ich glaube daher den Wünschen mancher Kreise entgegenzukommen, wenn ich diese kleine Sammlung von Übungsaufgaben zur experimentellen Einführung in das Fach herausgebe. Ich sehe gleichzeitig hierin zurzeit die einzige Möglichkeit, um den mir kürzlich erteilten Lehrauftrag für dieses Fach nach der praktischen Seite zu erfüllen.

Der Inhalt ist ungefähr die Summe des Übungsstoffes, den ich Mitarbeitern und Schülern zur Einführung gegeben habe, mit einigen Erweiterungen. Die Versuchsbeispiele sind allmählich im Laufe der Jahre entstanden und zum Teil in wechselseitig fördernder Arbeit mit meinem Kollegen und Freunde P. Rona, zum Teil mit meinen Schülern und Mitarbeitern ausgearbeitet worden. Diesen Mitarbeitern habe ich dafür zu danken, daß sie sich mir zu gemeinsamer Arbeit anboten unter großen Entbehrungen an Bequemlichkeit, die ihnen die räumlichen Mißverhältnisse meines sogenannten „Laboratoriums" auferlegten; und das Buch sei in erster Linie allen denjenigen gewidmet, denen ich aus Mangel an Raum die praktische Unterweisung, um die sie mich gebeten hatten, abzuschlagen genötigt war.

Einige Vorbemerkungen vor den Übungen sollen dem Ganzen einen wenn auch lockeren sachlichen Zusammenhalt geben; dem Praktikanten wird bei jeder Übung kurz auseinandergesetzt, worauf die angewendete Methode beruht, oder wie die Erscheinung, die er zu sehen bekommt, gedeutet werden kann. Bei der Auswahl der Versuche war ein subjektives Moment nicht zu vermeiden. Aber der Umstand, daß nur genau selbst ausprobierte, zum guten Teil selbst disponierte Versuchsanordnungen gegeben werden, wird hoffentlich als ein Sicherheitsfaktor zur Geltung kommen, der die Nachteile der subjektiven Färbung ausgleicht. Denn das Büchlein soll kein systematisches Lehrbuch der Methodik sein, sondern nur ein in Buchform niedergelegter praktischer Kursus von Übungsbeispielen, die mir lehr-

817389

Digitized by Google

reich schienen. Sollte einmal das Bedürfnis nach einer erneuten Ausgabe eintreten, so wird es mein erstes Bestreben sein, die noch bestehende Einseitigkeit auszugleichen. Zunächst habe ich das zu geben versucht, dem ich mich jetzt gerade gewachsen fühlte.

In der Ausführlichkeit der Darstellung wurden diejenigen Methoden und Versuchsbeispiele bevorzugt, die in der mir angemessen erscheinenden Form noch nicht so verbreitet sind, während die seit langem zur Vollkommenheit ausgearbeiteten Methoden, wie Leitfähigkeitsmessungen, Gefrierpunktsbestimmungen, kürzer gehalten wurden.

Die Reihenfolge der Übungen ist in erster Linie nach methodischem Prinzip geordnet. Das ist in gewisser Beziehung auch eine Ordnung nach sachlichem Prinzip, wenn auch nicht in strenger Durchführung. So mußte z. B. die Bestimmung der H-Ionen mit Indikatoren von derselben mit der Gaskette räumlich weit getrennt werden, und anderseits sind Beispiele aus der physikalischen Chemie im engeren Sinne und aus der Kolloidchemie durcheinander geworfen. So stehen das Löslichkeitsminimum einer Aminosäure und das Flockungsoptimum des Kaseins zunächst aus methodischen Gründen dicht hintereinander. Ich hoffe aber den Leser davon zu überzeugen, daß diese Anordnung auch nach sachlichem Prinzip die richtige ist.

Es handelt sich um eine innerlich zusammenhängende Gruppe von Methoden, von der es leicht ist zu prophezeien, daß sie in kurzer Zeit eine große nicht nur theoretische, sondern auch praktische Bedeutung in der klinischen Medizin, Bakteriologie, Serologie, Biologie, Nahrungsmittelchemie, Pharmakologie, Agrikulturchemie und vielen Zweigen chemischer Technik erlangen werden. Die Stellung der berufenen Gelehrten und Praktiker zu diesen Dingen schwankt in Deutschland noch zwischen ablehnendem Mißtrauen selbst gegen die bestbewährten Methoden und Theorien, und kritikloser Aufsaugung jedes neuen Begriffes, um nicht zu sagen: Wortes. Nur darin sind sie sich bisher alle einig gewesen, daß es nicht erforderlich sei, für praktischen Unterricht auf diesem Gebiet an den Universitäten zu sorgen. Die jüngere Generation und der Nachwuchs teilt nach meinen Erfahrungen diese Meinung der Berufenen nicht; ihr Lernbedürfnis ist erfreulich groß. Ihr sei dieses Büchlein als Ersatz für den lebendigen praktischen Unterricht gewidmet.

Berlin, Weihnachten 1920.

L. M.

Digitized by Google

Inhaltsverzeichnis.

		Seite
I.	Das Prinzip des Reihenversuchs	1
1. Übung:	Quantitative Bestimmung des Labferments im Magensaft	3
2. „	Quantitative Bestimmung des Pepsins im Magensaft	6
II.	Flockungsschwellenwerte bei kolloiden Lösungen	7
3. Übung:	Die Fällung von kolloidem (elektropositivem) Eisenhydroxyd durch Elektrolyte	9
4. „	Die Fällung von elektronegativem Mastixsol durch Elektrolyte	9
5. „	Der Farbenumschlag des Kongorubin	10
6. „	Wechselseitige Schutzwirkung und Fällung von Kolloiden	12
7. „	Hofmeistersche Ionenreihen bei der Eiweißfällung	14
8. „	Die Hofmeisterschen Ionenreihen mit Hämoglobin	15
III.	Einige Versuche über optische Inhomogenität. 9. Übung	16
IV.	Die Bestimmung der Wasserstoff-Ionendurchlndikatoren	18
	a) Die Sonderstellung der H·- und OH′-Ionen	18
	b) Maßeinheit und Schreibweise	20
10. Übung:	Die Regulatoren oder Puffer	22
11. „	Die Bestimmung der Wasserstoffzahl mit Indikatoren nach Sörensen (mit Puffern)	24
12. „	Der Salzfehler der Indikatoren	30
13. „	Die Bestimmung der Wasserstoffzahl mit Indikatoren ohne Puffer	32
14. „	Messung von ph nach derselben Methode im Harn als Beispiel für eine gefärbte Flüssigkeit	37
15. „	P_h-Messung nach der Indikatoren-Methode in einer gefärbten oder getrübten Flüssigkeit mit Zuhilfenahme des Walpoleschen Prinzips	38
16. „	Der Unterschied zwischen aktueller Azidität und Titrationsazidität	40
17. „	Titration von Magensaft	42
V.	Fällungsoptima bei variierter Wasserstoffzahl	44
	Das Prinzip der h-Reihe mit Salzkonstanz	44
18. Übung:	Das Kristallisationsoptimum oder Löslichkeitsminimum der m-Aminobenzoesäure	45
19. „	Das Fällungsoptimum des Kaseins bei variierter h	48
20. „	Herstellung von denaturiertem, kolloid gelöstem Serumalbumin und Bestimmung seines Flockungsoptimum	50
21. „	a) Die Alkoholempfindlichkeit der Gelatine bei variierter h	53
	b) Die Alkoholempfindlichkeit des genuinen Serumalbumin bei variierter h	54

Digitized by Google

Seite

22. Übung: Das Flockungsoptimum eines Gemisches von Tannin und Gelatine 55
23. „ Das Fällungsoptimum von Lezithin bei variierter h 57
24. „ Das Fällungsoptimum von Lezithin-Eiweißverbindung 58
25. „ Die Säureagglutination der Typhusbazillen 59

VI. Oberflächenspannung 60
26. Übung: Die Steighöhenmethode 61
27. „ Bestimmung der relativen Oberflächenspannung mit der Tropfenmethode (Stalagmometer nach J. Traube) 62
28. „ Die steigende biologische Wirkung oberflächenaktiver Stoffe in homologen Reihen 64
29. „ Relative quantitative Analyse eines kapillaraktiven Stoffes 66
30. „ Nachweis des fettspaltenden Ferments im Blutserum 68
31. „ Nachweis des fettspaltenden Ferments im Magen- und Darmsaft 70
32. „ a) Sensibilisierung eines Kolloids für Elektrolytfällung durch einen kapillaraktiven Stoff . . . 70
b) Beeinflussung der Sedimentierungsgeschwindigkeit durch kapillaraktive Stoffe 71
33. „ Bedingt oberflächenaktive Stoffe; Einfluß der h auf die Oberflächenspannung 72
34. „ Titration mit einem bedingt oberflächenaktiven Stoff als Indikator 73

VII. Diffusion, Osmose, Filtration 74
35. Übung: Diffusion 75
36. „ Dialyse 76
37. „ Die Kompensationsdialyse 78
38. „ Osmose 79
39. „ Ultrafiltration 82
40. „ Gefrierpunktserniedrigung 83
41. „ Messung des osmotischen Drucks kolloider Lösungen 85

VIII. Quellung, Viskosität, Gallertbildung 78
42. Übung: Quellungsmaximum und minimum der Gelatine . 88
Die innere Reibung oder Viskosität von hydrophilen Kolloiden 89
43. „ Bestimmung der inneren Reibung (Viskosität) einer Lösung 90

IX. Die Gallertbildung 93
44. Übung: Erstarrungsoptimum und Trübungsoptimum bei variierter h 93

X. Elektrophorese und Elektroendosmose 95
45. Übung: Die elektrische Kataphorese des Hämoglobin . . . 96
1. Herstellung der Mittelflüssigkeit 96
2. Herstellung der Seitenflüssigkeit 97
46. „ Elektrische Kataphorese von roten Blutkörperchen bei Beobachtung im Mikroskop 100
47. „ Elektrische Endosmose durch eine Tonzelle . . . 102
48. „ Elektrische Endosmose durch eine Kollodiummembran 103

Digitized by Google

Seite

XI. Adsorption 105
49. Übung: Übersicht über die Typen der Adsorptionsmittel und Adsorbenda 105
50. Übung: Die Verdrängungserscheinungen 106
51. „ Adsorption der Elektrolyte und der Farbstoffe . 107
52. „ Die Freundlichsche Adsorptionsisotherme 109
53. „ Die Oxydation der Oxalsäure an der Oberfläche der Kohle 112

XII. Einfluß der h auf die Fermentwirkung. 113
54. Übung: Der Einfluß der h auf die Wirkung der Speicheldiastase 114
55. „ Das Wirkungsoptimum des Pepsin 115
56. „ Das Wirkungsoptimum der Katalase 116

XIII. Messung der elektrischen Leitfähigkeit einer Lösung.
57. Übung 117

XIV. Messung elektromotorischer Kräfte 121
58. Übung: Herstellung eines Normalelements 121
59. „ Der Gebrauch des Kapillarelektrometers 123
60. „ Herstellung der Kompensationsschaltung zur Messung elektromotorischer Kräfte mit Hilfe eines Meßdrahts 125
61. „ Messung der EMK des Akkumulators 126
62. „ Der Gebrauch der Rheostaten mit Vorschaltwiderstand 128
Direkte Ablesung der Millivolt 128
63. „ Herstellung von Kalomelelektroden und Cl-Konzentrationsketten mit solchen. 130
64. „ Elektrometrische Bestimmung der Cl-Ionen in einer unbekannten Lösung. 134
65. „ Messung eines Diffusionspotentials; seine experimentelle Vernichtung 137
66. „ Das Membranpotential der Apfelschale 138
67. „ Wasserstoffkonzentrationskette mit strömendem Wasserstoff 139
68. „ Herstellung und Eichung einer gesättigten Kalomelelektrode 142
69. „ Wasserstoffelektrode mit stehender Gasblase. ph-Messung in Serum 143
70. „ h-Messung im Blut 145
71. „ Elektrometrische Mikroanalyse von Kalziumoxyd 145
72. „ Die elektrometrische Titration 147

XV. Reaktionskinetik. 153
73. Übung: Die Säurespaltung des Rohrzuckers. 153
74. „ Die fermentative Spaltung des Rohrzuckers . . . 157
Logarithmentafel 160

Digitized by Google

Digitized by Google

Druckfehlerverzeichnis.

Seite 20, 5. Zeile von unten
lies: $37^{\circ}\ h = oh = 1{,}77 \cdot 10^{-7}$
statt: $37^{\circ}\ h = oh = 1{,}77 \cdot 10^{-14}$

Seite 20, 6. Zeile von unten
lies: bei $18^{\circ}\ h = oh = 0{,}85 \cdot 10^{-7}$
statt: bei $18^{\circ}\ h = oh = 0{,}85 \cdot 10^{-14}$

Seite 21, 15. Zeile von oben
lies: dann ist $\log h = \log 2 + \log 10^{-5}$
statt: dann ist $h = \log 2 + \log 10^{-5}$

Seite 33, 11. Zeile von oben
lies: 1,0 ccm des Indikators
statt: 0,50 ccm des Indikators

Seite 33, 19. Zeile von unten
lies: 11 ccm statt: 10,5 ccm

Seite 68, 11. Zeile unter der Kapitelüberschrift
hinter: „100 ccm dest. Wasser" ist einzufügen: „versetzt".

Seite 138, 8. Zeile unter der Kapitelüberschrift
lies: negative Pol
statt: positive Pol

Seite 147, im oberen Drittel der Seite
lies: enthielten ursprünglich $5 \times 0{,}002$
statt: enthielten ursprünglich $5 \times 0{,}0002$

h irgend-
en Agens
kolloide
nolysins,
zung so-
ntration
ng einer
elche in
Eins der
t die Be-
lytischen
Hammel-
gegebe-
lämolyse
rsuch an
len z. B.,
d 0,0001
ersuchen

10
001 ccm

aber das
he Dosis
enig ist.
idene ist,
n. Neh-
s soeben
mit der
edrigerer
r unsere
b, wo in
falsches
eihe an:

0,0001; 0,0002, so muß sie weiter gehen: 0,0004; 0,0008;

Digitized by Google

0,0016. Das ist eine geometrische Reihe mit dem Quotienten 2. Wollen wir feiner abstufen, so nehmen wir eine geometrische Reihe mit dem Quotienten 1,5 oder noch feiner, z. B. 1,2, je nach der überhaupt bei dem Material erreichbaren Genauigkeit. Also z. B., indem wir immer auf 2 Stellen abrunden:

	0,0010	0,0015	0,0022		
oder					
	0,0010	0,0012	0,0014	0,0017	0,0020

Wir umspannen also das fragliche Intervall durch 3 Glieder einer geometrischen Reihe mit dem Quotienten 1,5, oder durch 5 Glieder mit dem Quotienten 1,2. Liegt das fragliche Intervall zwischen 0,006 und 0,012, so sind die entsprechenden Reihen

	0,0060	0,0090	0,0015	0,0022	
bzw.					
	0,0060	0,0072	0,0086	0,0103	0,0123

Wir werden bei einem ganz unbekannten Material in der Regel zur Orientierung mit einer Reihe 1 : 10 : 100 usw. anfangen, dann in dem zutreffenden Intervall eine Reihe mit dem Faktor 2 machen, und schließlich je nach Art des Materials eine noch feinere Reihe.

Liegt uns daran, gerade eine Zehnerpotenz zu umspannen, so können wir das durch folgende Reihen[1]):

Die Reihen umspannen alle das Intervall 0,1 bis 1,0.

Quotient der Reihe:	Zahl der Glieder:	Die Reihe lautet:
$\sqrt[2]{10}$	3	0,10 0,32 1,00
$\sqrt[3]{10}$	4	0,10 0,22 0,46 1,00
$\sqrt[4]{10}$	5	0,10 0,18 0,32 0,56 1,00
$\sqrt[5]{10}$	6	0,10 0,16 0,25 0,40 0,63 1,00
$\sqrt[6]{10}$	7	0,10 0,15 0,21 0,32 0,46 0,68 1,00
$\sqrt[7]{10}$	8	0,10 0,14 0,19 0,27 0,37 0,52 0,72 1,00
$\sqrt[8]{10}$	9	0,10 0,13 0,18 0,24 0,32 0,42 0,56 0,75 1,00
$\sqrt[9]{10}$	10	0,10 0,13 0,17 0,21 0,28 0,36 0,46 0,60 0,77 1,00

[1]) E. Fuld, Klin.-therapeut. Wochenschrift 1907. Nr. 11.

Digitized by Google

Häufiger wird es vorkommen, daß wir eine gröbere Reihe mit dem Quotienten 2 durch Zwischenschalten von Gliedern verfeinern wollen. Solche Reihen müssen in folgenden Verhältnissen abgestuft sein:

Quotient der Reihe:	Zahl der Glieder:	Die Reihe lautet:						
2	2	1,00	2,00					
$\sqrt{2}$	3	1,00	1,41	2,00				
$\sqrt[3]{2}$	4	1,00	1,26	1,59	2,00			
$\sqrt[4]{2}$	5	1,00	1,19	1,42	1,69	2,00		
$\sqrt[5]{2}$	6	1,00	1,12	1,26	1,41	1,59	1,78	2,00

Es ist allerdings nicht notwendig, sich gerade an diese Reihen zu binden. Wir werden im folgenden meist mit freigewählten geometrischen Reihen verschiedener Feinheit arbeiten.

Die folgenden zwei Übungen sollen zunächst nur die praktische Anwendung dieses Reihenprinzips veranschaulichen.

1. Übung.

Quantitative Bestimmung des Labferments im Magensaft[1]).

Es ist nur eine relative, quantitative Bestimmung möglich, bezogen auf eine willkürlich festgelegte Einheit des Ferments. Diese kann man in folgender Weise festlegen.

5 g Pepsin „Grübler" werden mit 50 ccm 10proz. Kochsalzlösung versetzt, 8 Tage unter gelegentlichem Aufschütteln aufbewahrt, filtriert, das Filtrat mit der gleichen Menge Glyzerin versetzt und verschlossen, dunkel und möglichst kühl aufbewahrt. Die Haltbarkeit der Lösung dürfte unbegrenzt sein. Der Titer fällt natürlich ungleichmäßig aus. Eine sicher reproduzierbare allgemein zugängliche Labeinheit existiert noch nicht. Bis dahin definiere sich jeder seine eigene Labeinheit.

Das Prüfungsobjekt ist am besten gekochte Milch, mit $^1/_{10}$ Volumen einer 10proz. Lösung von $CaCl_2$ versetzt (auf kristallisiertes, wasserhaltiges $CaCl_2$ berechnet; auf große Genauigkeit der Lösung kommt es nicht an).

Es empfiehlt sich, eine solche Labverdünnung als Einheitslösung zu wählen, welche, mit der gleichen Menge dieser $CaCl_2$-

[1]) L. Michaelis und T. Rothstein, Biochem. Zeitschr. **105**, 60. 1920.

Digitized by Google

Milch versetzt, bei Zimmertemperatur nicht schneller als in 8—10 Minuten Gerinnung hervorruft. Es pflegt dies eine etwa 10000fache Verdünnung der Urlösung des „Pepsin Grübler" zu sein. Wir nennen somit dann die 10000fache Verdünnung unserer Ur-Lablösung die „Einheitslablösung"; 1 ccm derselben enthalte 1 „Fermenteinheit" (FE).

Der Magensaft, dessen Labgehalt bestimmt werden soll, wird zunächst filtriert und dann davon eine Verdünnungsreihe angestellt, absteigend von unverdünntem bis etwa 500fach verdünntem Magensaft. (Bei Säften von normaler Azidität kann man die zehnfache Verdünnung als höchste Konzentration wählen, bei anaziden beginnt man mit unverdünntem Saft.)

Man füllt in eine Reihe von 10 Reagenzgläsern je 1,0 ccm destilliertes Wasser; nur das erste dieser Röhrchen wird zunächst leer gelassen. In dieses füllt man mit einer auf Ausblasen geeichten 1 ccm-Pipette 1 ccm Magensaft ein. In das zweite Röhrchen (welches schon 1 ccm Wasser enthält) füllt man ebenfalls 1 ccm Magensaft ein, mischt durch wiederholtes Aufziehen mit der Pipette gut durch und überträgt 1 ccm davon in das 3. Röhrchen, mischt durch, überträgt 1 ccm in das nächste Röhrchen usf. Ist man beim 10. Röhrchen angelangt, so verwirft man den zum Schluß entnommenen 1 ccm, so daß in jedem Röhrchen 1 ccm Magensaft ist, und zwar in folgenden Verdünnungen:

$^1/_1$ $^1/_2$ $^1/_4$ $^1/_8$ $^1/_{16}$ $^1/_{32}$ $^1/_{64}$ $^1/_{128}$ $^1/_{256}$ $^1/_{512}$

Nun nehme man noch ein Reagenzglas, welches man, mit einer Markierung versehen, etwa in die Mitte dieser ganzen, auf einem Reagenzglasgestell stehenden Reihe fügt, und versetze es mit 1 ccm der 10000fach verdünnten Ur-Lablösung. Dann fügt man aus einer graduierten 10 ccm-Pipette rasch hintereinander je 1 ccm der $CaCl_2$-Milch ein. Hierzu ist kaum 1 Minute insgesamt erforderlich. In Anbetracht der Grobheit dieses Vorversuchs kann diese Einfüllungszeit als ein „Zeitpunkt" betrachtet werden. Man notiert diesen Zeitpunkt und beobachtet nun die Reagenzgläser. Man nimmt das ganze Gestell in die Hand, neigt es öfters abwechselnd nach hinten und richtet es wieder auf, beobachtet, wie die Milch von den Reagenzglaswänden abläuft. In den ersten Röhrchen wird man bald bemerken, daß die ablaufende Milch körnig ist. Es kommt nun darauf an festzustellen, welches der Röhrchen gleichzeitig mit der „Kontrolle" körnig wird. Man finde z. B., daß die Kontrolle zwischen Röhrchen 7 und 8 gerinnt, näher an 7 als an 8. Dann wird eine feinere Versuchsreihe angestellt, und zwar mit einer neu her-

Digitized by Google

gestellten Magensaftverdünnung. Da der wahre Wert etwa zwischen $^1/_{64}$ und $^1/_{128}$ liegen muß, und zwar näher an $^1/_{64}$ als an $^1/_{128}$, stelle man eine frische Magensaftverdünnung $^1/_{50}$ her und von dieser ausgehend eine in geometrischer Reihe abgestufte Verdünnungsfolge bis $^1/_{100}$, z. B. folgendermaßen, indem jedes folgende Röhrchen etwa 0,8 mal so viel Magensaft enthielt, als das vorangehende:

	Nr. 1	2	3	4	
50fach verdünnter Magensaft	2,0	1,6	1,3	1,0	ccm
Wasser	0	0,4	0,7	1,0	„

Als letztes Röhrchen nehme man 2 ccm der 10000fach verdünnten Ur-Lablösung als „Kontrolle" und stelle sie in die Mitte der Reihe. Nun fülle man aus einer graduierten 10 ccm-Pipette je 2 ccm der $CaCl_2$-Milch sehr genau, aber schnell hintereinander ein, notiere die Zeit und verfahre wie oben. Angenommen, die Gerinnung der Kontrolle erfolge zwischen Röhrchen Nr. 1 und 2, näher an 1, so findet man durch schätzungsweise Interpolation, daß 1,9 ccm die richtige Menge gewesen wäre (für sehr genaue Versuche könnte man dies durch eine dritte, noch feinere Reihe in den Grenzen zwischen 2,0 und 1,6 bestätigen).

Die Berechnung gestaltet sich folgendermaßen: 1,9 ccm 50fach verdünnter Magensaft hat die gleiche Wirksamkeit wie 2 ccm der „Kontrolle". Folglich enthält die 50fache Magensaftverdünnung mehr Ferment, als die Kontrolle, und zwar das $\frac{2}{1{,}9}$fache, und der ursprüngliche Magensaft das $\frac{50 \cdot 2}{1{,}9}$ fache. Da wir definiert hatten: 1 ccm der Kontrolle enthält 1 FE, so enthält der Magensaft $\frac{50 \cdot 2}{1{,}9} = 52{,}6$ FE in 1 ccm.

Genauigkeit der Bestimmung etwa $\pm$ 10% des Gesamtwertes; bei Ansetzung der oben erwähnten noch feineren Reihe $\pm$ 5% des Gesamtwertes.

Man beachte, daß die Temperatur in allen Röhrchen genau gleich bleiben muß. Alle Lösungen müssen vorher gut auf Zimmertemperatur durch längeres Stehen eingestellt sein; man vermeide, die Reagenzgläser längere Zeit in der Hand zu halten. Dann kann man ein Wasserbad entbehren.

Neutralisieren des Magensaftes vor der Bestimmung ist nicht erlaubt. Es ist erstens unnötig, weil die Milch ein sehr guter Puffer (s. später) ist, und zweitens unter Umständen fehlerhaft, weil beim Neutralisieren ein Teil des Labs zerstört werden kann.

Digitized by Google

2. Übung.

Quantitative Bestimmung des Pepsins im Magensaft[1]).

12fach mit destilliertem Wasser verdünntes menschliches Blutserum oder 15fach verdünntes Hammelserum mit so viel einer 10proz. Sulfosalizylsäurelösung versetzt, bis eine milchige Trübung entstanden ist und (rotes) Kongopapier soeben violett, nicht eigentlich blau wird. Wenn das richtig getroffen ist, so bildet sich eine homogene, milchige, nicht sedimentierende Trübung von Eiweiß.

Nun fülle man in ein Reagenzglas 1 ccm des filtrierten Magensaftes; in eine weitere Reihe von 5 Reagenzgläsern je 1 ccm Wasser; in das erste dieser 5 Gläser gebe mit einer 1 ccm-Pipette 1 ccm Magensaft, mische um, übertrage 1 ccm in das nächste Glas usf., ähnlich wie bei der Labbestimmung beschrieben. Wir haben somit je 1 ccm Magensaft in den Verdünnungen

$$^1/_1 \qquad ^1/_2 \qquad ^1/_4 \qquad ^1/_8 \qquad ^1/_{16} \qquad ^1/_{32}$$

Ferner kommt in ein Reagenzglas 1 ccm „Einheitspepsinlösung", d. h. 1 ccm der oben beschriebenen, diesmal aber nur 100fach verdünnten „Ur-Lablösung". (Allgemein ausgedrückt: Die „Einheitspepsinlösung" soll 100 mal so viel von dem Pepsinpräparat enthalten, als die „Einheitslablösung". Das gleiche „Pepsin"-Präparat wird einmal als Lab, einmal als Pepsin benutzt.) Zu jedem Röhrchen fügt man jetzt 5 ccm der Eiweißsulfosalizylsäuremischung und stellt das Ganze in einem passenden Reagenzglasgestell aus Metall in ein Wasserbad von 38—40°. Durch die Pepsinwirkung hellt sich die Eiweißtrübung allmählich auf. Es kommt nun darauf an festzustellen, welches der Röhrchen denselben zeitlichen Gang der Aufhellung zeigt wie die Kontrolle. Man beobachte so lange, bis die Kontrolle einen mittleren Grad von Aufhellung zeigt, der sich schon sehr deutlich vom Anfangszustand unterscheidet; aber keinesfalls darf man bis zu völliger Klärung der Kontrolle warten. In der Regel sind 5 bis 25 Minuten dazu erforderlich, bzw. muß man die Verdünnung der Kontrollösung so einstellen. Hat man durch diesen groben Vorversuch ein annäherndes Resultat erreicht, so wiederhole man den Versuch mit feinerer Abstufung, etwa folgendermaßen. Man geht von derjenigen Magensaftverdünnung aus, welche gerade etwas schneller als die Kontrolle aufhellte; von dieser stellt man folgende Verdünnungen her:

---

[1]) L. Michaelis und T. Rothstein l. c.

Digitized by Google

Magensaftverdünnung	ccm	1,0	0,8	0,64	0,5
Wasser	„	0	0,2	0,36	0,5

In ein sechstes Röhrchen Kontrollferment 1,0; zu jedem Röhrchen 5 ccm der Sulfosalizylsäure-Eiweißmischung, dann fortfahren wie bei der groben Reihe. Rechnung wie beim Labversuch. Nimmt man 1 ccm der 100fach verdünnten Ur-Lablösung = 1 Pepsineinheit an, so muß ein Magensaft stets 100mal soviel Labeinheiten enthalten als Pepsineinheiten, wenn man voraussetzt, daß das Verhältnis von Lab zu Pepsin in jedem Magensaft das gleiche ist wie in dem Kontrollferment.

Genauigkeit der Pepsinbestimmung mindestens etwa ± 20% des Gesamtwertes.

Der Grund, warum man ein verhältnismäßig kleines Volumen (1 ccm) des Magensaftes mit einem so großen Überschuß an der sauren Eiweißlösung (5 ccm) vermischt, ist folgender: Die Methode muß die Bedingung erfüllen, daß innerhalb einer Versuchsreihe jedes Röhrchen, einschließlich der „Kontrolle", die gleiche Azidität hat. Das kann nur dadurch erreicht werden, daß die Azidität durch die im Überschuß zugegebene saure Eiweißlösung bestimmt wird, so daß demgegenüber die Aziditätsunterschiede zwischen den einzelnen Magensaftverdünnungen und der Kontrolle nicht zur Geltung kommen.

II. Flockungsschwellenwerte bei kolloiden Lösungen.

Nach der historisch begründeten Definition verstehen wir unter einer kolloiden Lösung eine solche Lösung, bei der der gelöste Stoff, wenn er gegen das reine Lösungsmittel durch eine Membran aus Schweinsblase oder Pergament getrennt ist, nicht durch die Membran diffundiert. A priori kann das unter zwei Bedingungen der Fall sein, erstens, wenn das Molekül des gelösten Stoffes zu groß ist, um durch die Poren der Membran hindurchzukommen, zweitens, wenn das einzelne Molekül zwar nicht zu groß ist, wenn aber dafür die Lösung nicht die einzelnen Moleküle in totaler Dispersion enthält, sondern wenn die kleinsten Teilchen des gelösten Stoffes aus Aggregaten von vielen Molekülen bestehen, aus „Micellen", welche zu groß für die Poren sind. Die Erfahrung zeigt nun, daß sehr große Moleküle häufig gleichzeitig zu unvollkommener Dispersion neigen, besonders wenn sie keine elektrische Ladung haben (keine Ionen

Digitized by Google

bilden). Man kann kolloide Lösungen als heterogene (mikroheterogene) Systeme auffassen, in denen man nach Wo. Ostwald das Dispersionsmittel und die disperse Phase unterscheidet.

Man kann die Kolloide nach verschiedenen Einteilungsprinzipien einteilen, z. B.:

in reversible und irreversible, je nachdem der Zustand der kolloiden Lösung von ihrem Gehalt an Kolloidbildnern, Wasser, anderen gelösten Stoffen, insbesondere Elektrolyten, und von der Temperatur eindeutig und umkehrbar abhängig ist; besonders also danach, ob eine durch Elektrolyte erzeugte Flockung nach Entfernung des Flockungsmittels wieder rückgängig wird;

in hydrophile und hydrophobe, je nachdem man eine Affinität der dispergierten Teile zum Wasser annimmt oder nicht;

in visköse und nicht-visköse Kolloide, je nachdem sie die Viskosität des Wassers merklich steigern oder nicht;

in Suspensions- und Emulsionskolloide, je nachdem man der dispergierten Phase feste oder flüssige Beschaffenheit zuschreibt;

in elektrolytempfindliche und -unempfindliche (d. h. weniger empfindliche) Kolloide.

Im großen und ganzen, wenn auch nicht durchweg, führt jedes dieser Einteilungsprinzipien zu denselben zwei Gruppen; auch gibt es bei jedem Einteilungsprinzip Übergänge zwischen den Extremen.

Wir wollen zunächst einige elektrolytempfindliche und irreversible Kolloide kennen lernen und ihre Flockungsschwellenwerte gegenüber einigen Elektrolyten bestimmen.

Überwiegend maßgebend für die fällende Wirkung eines Salzes ist die Natur desjenigen Ions, welches die entgegengesetzte elektrische Ladung als die disperse Phase des Kolloids hat, wobei zu berücksichtigen ist, daß Kolloide durch das Salz manchmal selbst umgeladen werden können. Mehrwertige Ionen sind wirksamer als einwertige; unter den einwertigen Ionen zeichnet sich das $H^{\cdot}$- und das OH'-Ion durch besondere Wirksamkeit aus.

Da die Dosierung der $H^{\cdot}$- und OH'-Ionen besondere Methoden erfordert, betrachten wir zunächst den methodisch einfacheren Fall der Neutralsalzwirkung, wobei nur gelegentlich die Wirkung sehr reichlicher H- oder OH-Ionen, d. h. ganz starker Säuren oder Basen, mit herangezogen wird. Das eigentliche Studium der Wirkung der $H^{\cdot}$- und OH'-Ionen folgt in einem späteren Kapitel.

Die Wertigkeit der Ionen ist keineswegs das alleinige, bestimmende Moment für ihre fällende Wirkung; auch spezifische Einflüsse sind maßgebend, insbesondere der Hydratationsgrad;

Digitized by Google

die Entladungsspannung; je kleiner diese, desto größer ihre Wirkung. So gehört das edle $Ag^{\cdot}$ zu den wirksamsten Ionen, obwohl es einwertig ist. Bei einatomigen Ionen ist die Stellung im periodischen System der Elemente bedeutungsvoll.

3. Übung.

Die Fällung von kolloidem (elektropositivem) Eisenhydroxyd durch Elektrolyte.

Kolloidales Eisenhydroxyd ist ein positiv geladenes hydrophobes Kolloid. Es wird durch alle Elektrolyte irreversibel geflockt. Die Natur des Kations ist fast belanglos, dagegen ist die Wirkung des Anions sehr verschieden je nach seiner Art, besonders je nach seiner Wertigkeit. Von den Anionen ist das OH'-Ion, obwohl es nur einwertig ist, von besonders starker Wirksamkeit auf die Fällung.

Man benutze den käuflichen „Liquor ferri oxydati dialysati", 10fach mit destilliertem Wasser verdünnt.

Man nehme eine Reihe Reagenzgläser, 6 — 7, lasse das erste zunächst leer und fülle in die anderen je 9 ccm destilliertes Wasser. In das erste Röhrchen bringt man jetzt 9 ccm molare KCl-Lösung, in das zweite 1 ccm mKCl-Lösung, mischt durch und überträgt hiervon 1 ccm in das nächste Röhrchen, hiervon wieder 1 ccm in das nächste usw. In jedes dieser Röhrchen gibt man dann 1 ccm der 10fach verdünnten Eisenhydroxydlösung. Wir haben so eine ganz grobe geometrische Reihe von KCl-Konzentrationen mit dem Quotienten 10. In Röhrchen Nr. 1 tritt sofort Flockung ein, in Nummer 2 nach einiger Zeit, von Nr. 3 an gar nicht mehr.

Nimmt man statt mol KCl jetzt m/2 $CaCl_2$ oder m/3 $AlCl_3$, so bleibt die Schwelle der flockenden Konzentration die gleiche; eher flockt sogar $AlCl_3$ ein wenig schwächer als KCl (bezogen auf gleichen Cl-Gehalt). Nimmt man aber m/2 Na_2SO_4, so tritt bis zum 4. Röhrchen sofortige Flockung ein.

Ferner überzeuge man sich, daß Eisenhydroxyd durch Salzsäure und Essigsäure nicht, wohl aber durch Spuren von NH_3 oder NaOH gefällt wird.

4. Übung.

Die Fällung von elektronegativem Mastixsol durch Elektrolyte.

10 g Mastix werden in 100 ccm 96proz. Alkohol gelöst und filtriert. 10 ccm hiervon werden in ein großes Becherglas gegossen und 200 ccm destilliertes Wasser möglichst auf einmal und schnell

Digitized by Google

dazu gegeben. Es entsteht eine milchartige Flüssigkeit. Sie wird zunächst filtriert. Mit dieser Flüssigkeit werden dieselben Versuche und in der gleichen Anordnung wie mit dem Eisenhydroxyd angestellt. Nach einstündiger Beobachtung sind die Schwellenwerte für die Flockung folgende:

	KCl	0,1 normal
$\frac{1}{2}$	$CaCl_2$	0,01 normal
$\frac{1}{3}$	$AlCl_3$	0,0001 bis 0,00001 normal
$\frac{1}{2}$	Na_2SO_4	0,1 normal

Die verschiedenen Chloride sind also nicht wie beim Eisenhydroxyd gleichwertig, sondern mit steigender Wertigkeit des Kations stark zunehmend in der Fällungswirkung. Andererseits wirkt Na_2SO_4 nicht stärker als $NaCl$, weil die Verschiedenheit dieser Salze im Anion liegt. Zusatz von Essigsäure oder Salzsäure flockt, dagegen NH_3 nicht; umgekehrt, wie beim Eisenhydroxyd.

Bei stark wirksamen Salzen kommen die sogenannten unregelmäßigen Reihen vor; kleine Konzentrationen des Salzes flocken, mittlere nicht, und noch höhere flocken wieder. Man stelle eine geometrische Reihe von $AlCl_3$-Lösungen nach dem Verdünnungsverfahren wie in Übung 1 her, mit dem Quotienten 2, anfangend mit 0,5 molar, mindestens eine 20 gliedrige Reihe, je 5 ccm. Zu jedem Röhrchen gibt man 5 ccm des Mastixsol. Man findet, je nach der Beschaffenheit des Mastixsol, etwas verschieden, in den höchsten Konzentrationen Flockung, dann einige Röhrchen ohne Flockung, dann wieder Flockung, zum Schluß bei allerniedersten Konzentrationen keine Flockung (z. B. Flockung von den stärksten Konzentrationen bis 0,002 molar; flockenfrei bis etwa 0,0001 molar; wieder Flockung bis 0,00003 molar; dann wieder keine Flockung). Die Ursache liegt in der umladenden Wirkung des $AlCl_3$ selbst; die nicht flockende Zwischenzone besteht aus positiv geladenem Mastix; hier fällt das $Al^{\cdots}$ nicht, weil es als gleichsinniges Ion belanglos ist, und das Cl' flockt, da es ein schwach wirksames Ion ist, erst in höherer Konzentration.

5. Übung.

Der Farbenumschlag des Kongorubin[1]).

Bei manchen gefärbten kolloiden Lösungen ist die Dispersitätsvergröberung mit einer Änderung der Farbe verbunden.

[1]) Wolfgang Ostwald, Kolloidchem. Beihefte **10**, 179. 1919.

Digitized by Google

Der Farbenumschlag tritt dann schon bei Dispersitätsvergröberungen ein, welche noch nicht zu einer grob sichtbaren Flockung führen, und demonstriert uns hier deutlicher als sonst, daß die sichtbare Flockung nur der Endeffekt einer allmählich zunehmenden Dispersitätsvergröberung ist. So wird die rote kolloide Goldlösung durch Elektrolyte blau gefärbt, als Vorstufe der Ausflockung. Das einfachste Objekt zum Studium dieser Erscheinung ist das Kongorubin: Man stelle eine dünne wäßrige Lösung in ausgekochtem destillierten Wasser her, von solcher Farbenintensität, daß sie in der Schicht eines Reagenzglases noch gut durchsichtig ist, und fülle nach völliger Abkühlung in eine Reihe von Reagenzgläsern je 10 ccm ein.

Je 4 Röhrchen werden zu einer Reihe vereinigt und mit absteigenden Mengen einer Salzlösung versetzt; mit 1,0; 0,5; 0,25; 0,12 ccm, und destilliertes Wasser zur Auffüllung auf gleiches Volumen. Als Salzlösung wählt man in verschiedenen Versuchsreihen: nKCl, nNaCl, nNH_4Cl, nKSCN, nKOH, verdünnte Barytlauge; m/2 K_2SO_4, m/2 $(NH_4)_2SO_4$; m/100 (= n/50) $CaCl_2$; m/1000 (= n/333) $AlCl_3$; n/250 HCl. In allen Röhrchen bildet sich beim Stehen bald eine Farbenänderung aus, welche je nach dem Salzgehalt alle Stufen von Rot bis Blau durchläuft. Wenn man nach $^1/_2$ bis 1 Stunde prüft, welche Mengen der verschiedenen Salze die gleiche Wirkung haben wie z. B. 0,25 ccm nKCl, so findet man bei NaCl, NH_4Cl etwa die gleiche Wirksamkeit wie bei KCl; von $CaCl_2$ haben 0,25 ccm der in bezug auf Normalität 50fach verdünnten Lösung die gleiche Wirkung, von $AlCl_3$ 0,25 ccm der an Normalität 333fach schwächeren Lösung, von HCl 0,25 ccm der 250fach verdünnten Lösung. Die Chloride sind also je nach der Art des Kations verschieden wirksam; am schwächsten und untereinander fast gleich K, Na, NH_4. 50mal stärker (auf Äquivalentkonzentration berechnet) das zweiwertige Ca, 333mal stärker das dreiwertige Al. Das H-Ion ist trotz seiner Einwertigkeit fast ebenso stark wirksam, wie Al (250fache Verdünnung). Die Wertigkeit ist hier, wie überhaupt, nicht das allein maßgebende Moment für die Wirksamkeit eines Ions. Das elektronegative Kongorubin verhält sich demnach ganz ähnlich wie das ebenfalls negative Mastixsol.

Die Dispersität des Kongorubins hängt stark von der Temperatur ab. Wenn man eine durch Salzzusatz blau gefärbte Lösung erwärmt, wird sie rot und beim Abkühlen allmählich wieder blau. Kongorubin geht spontan und reversibel in Lösung, Mastix dispersiert sich in Wasser nicht spontan, die Zustandsänderungen seines Sols sind irreversibel.

Digitized by Google

6. Übung.

Wechselseitige Schutzwirkung und Fällung von Kolloiden.

Nebeneinander in Lösung befindliche Kolloide beeinflussen gegenseitig ihre Elektrolytempfindlichkeit. Ein ektrolytunempfindliches Kolloid schützt ein gleichsinnig geladenes empfindliches Kolloid gegen die Elektrolytwirkung. Zwei entgegengesetzt geladene Kolloide flocken bei passenden Mengenverhältnissen einander aus; oder sie erhöhen die Elektrolytempfindlichkeit des Systems.

1) Je 10 ccm Mastixsol (auf dieselbe Weise hergestellt wie S. 9) werden einerseits mit 1 ccm destilliertem Wasser, andrerseits mit 1 ccm 1proz. Gelatinelösung versetzt. Je 3 ccm dieser Lösungen werden mit 10 ccm nKCl-Lösung versetzt. In dem Röhrchen ohne Gelatine tritt schnell grobe Flockung ein, in dem mit Gelatine tritt keine Flockung ein.

2) 4 ccm Kongorubinlösung werden einerseits mit 1 ccm destilliertem Wasser, andrerseits mit 1 ccm 1proz. Gelatinelösung versetzt und dazu je 5 ccm n/1 NaCl-Lösung getan. Ohne Gelatine tritt Farbumschlag von Rot in Blau ein, mit Gelatine zunächst fast keine Farbänderung; sehr allmählich folgt sie nach.

Die schützende Wirkung verschiedener relativ unempfindlicher Kolloide auf ein gegebenes empfindliches Kolloid ist sehr verschieden. Diejenige Menge des unempfindlichen Kolloids, welche rotes Goldsol vor dem Farbenumschlag nach Blau durch eine bestimmte Menge NaCl schützt, nennt man nach R. Zsigmondy die „Goldzahl" desselben. An ihrer Stelle kann man nach Wo. Ostwald die „Rubinzahl" benutzen. Man gibt in eine Reihe von Reagenzgläsern je 1 ccm einer 0,1proz. Lösung von Kongorubin und variierte Menge des Schutzkolloids, füllt auf 5 ccm auf und gibt schließlich überall 5 ccm 0,5 nKCl-Lösung hinzu. Man bestimmt die Konzentration des Schutzkolloids, bei der nach 10 Minuten ein erkennbarer Unterschied gegen die Kontrolle ohne KCl bei gleicher Verdünnung festzustellen ist. Man findet nach Wo. Ostwald:

Na-Caseinat	0,004%
Hämoglobin	0,008%
Albumin	0,020%
Gelatine	0,025%
Lösliche Stücke etwa	0,1%
Stärke etwa	0,2%

Digitized by Google

In diesen Fällen hat wohl stets das Schutzkolloid (z. B. Gelatine in neutraler Lösung) dieselbe Ladung wie das Suspensionskolloid (negativ). Hat aber das eine Kolloid entgegengesetzte Ladung wie das andere, so tritt im Gegenteil bei passenden Mengenverhältnissen sensibilierende Wirkung für Elektrolytfällung, unter Umständen sogar Spontanfällung ein. Filtriert man von der Fällung ab, so zeigt sich, daß nicht nur das elektrolytempfindliche Kolloid ausgefallen ist, sondern von dem elektrolytunempfindlichen Kolloid mehr oder weniger mitgerissen hat. Hierauf beruht folgende Methode zur Enteiweißung von Blutserum[1]):

5 ccm Blutserum werden mit 50 ccm destilliertem Wasser verdünnt und unter dauerndem Umschütteln ganz allmählich tropfenweise aus einer Pipette mit 25 ccm 5fach verdünntem kolloidalen Eisenhydroxyd (Liq. ferri oxydati dialysati, nicht Liq. ferri oxychlorati Pharm. Germ.) versetzt. Es entsteht sofort eine Fällung, welche sich nach einigen Minuten leicht abfiltrieren läßt. Das Filtrat ist wasserklar und frei von Eiweiß. Das Eisenhydroxyd ist positiv geladen, das Serumeiweiß bei der annähernd neutralen Reaktion negativ.

Etwas schwieriger ist die Enteiweißung von Blut, zum Teil wohl weil das Hämoglobin, dessen isoelektrischer Punkt ungefähr bei neutraler Reaktion liegt, in dem annähernd neutralen Reaktionsgemisch nicht entschieden negativ geladen ist. Es entsteht beim Zusatz des Eisenhydroxydsols keine spontane vollkommene Flockung, sondern Elektrolytzusatz ist notwendig. Die für die Flockung erforderliche Elektrolytmenge ist wegen der Schutzwirkung des Hämoglobins größer als in der reinen Eisenlösung.

Die Methode der Enteiweißung von Blut gestaltet sich folgendermaßen: 5 ccm defibriniertes Blut werden mit 45 ccm Wasser verdünnt und ganz allmählich unter ständigem Umrühren mit 100 ccm 4fach verdünnter Lösung von kolloidalem Eisenhydroxyd versetzt. Es tritt nur eine unvollkommene Flockung ein. Nach 10 Minuten setzt man aber 0,1 g fein gepulvertes K_2SO_4 hinzu und rührt gut um. Jetzt tritt energische Flockung ein. Nach 5 Minuten filtriert man. Das Filtrat soll schnell und klar filtrieren. Es ist frei von Eiweiß und Hämoglobin. Sollte beim Enteiweißen größerer Blutmengen noch eine Spur Hämoglobin im Filtrat sein, so kann man dies durch Zusatz einer kleinen Menge der Eisenlösung nachträglich entfernen.

[1]) P. Rona und L. Michaelis, Biochem. Zeitschr. **7**, 329 (1908) und **16**, 60 (1909).

Digitized by Google

Sehr sicher ist diese Enteiweißung, wenn sie mit der Hitzekoagulation kombiniert wird. Die Methode soll in der Form beschrieben werden, wie sie für eine Mikroanalyse des Zuckers im Blut geeignet ist[1]).

1 ccm Blut (durch NaF ungerinnbar gemacht, oder wenn es sich nur um Einübung der Enteiweißung handelt, defibriniertes Blut) wird in einem 100 ccm fassenden Kolben mit 11 ccm destilliertem Wasser (von denen man einen Teil zum Nachwaschen des Blutes aus der Pipette benutzen kann) versetzt, erhitzt und 2 Sekunden im Sieden erhalten und vom Feuer genommen. Dann werden 7,5 ccm einer aufs 5fache verdünnten Lösung von kolloidalem Eisenhydroxyd Tropfen für Tropfen unter dauerndem Umschütteln zugefügt, schließlich 0,5 ccm einer 0,5proz. Lösung von $MgSO_4$ zugesetzt. Es kann sofort filtriert werden. Die Lösung filtriert klar, farblos und nicht langsamer als blankes Wasser; sie ist eiweißfrei. Man kann die größere Hälfte der gesamten Lösung als Filtrat gewinnen und sie z. B. zur Zuckerbestimmung benutzen; da man nur einen Bruchteil der Lösung als Filtrat erhält, muß man von dem aliquoten Teil auf die Gesamtmenge umrechnen.

7. Übung.

Hofmeistersche Ionenreihen bei der Eiweißfällung.

Auch hydrophile Kolloide, wie Eiweißlösungen, werden durch die verschiedenartigsten Salze aus ihren Lösungen ausgesalzen, wenn auch erst bei höheren Salzkonzentrationen. Die aussalzende Wirkung eines Salzes hängt sowohl von der Natur seines Anions, wie von der seines Kations ab. Sie hängt aber auch von der jeweiligen Ladung des leicht umladbaren Eiweißes ab. Um einen klaren Einblick zu bekommen, wollen wir daher dem Eiweiß zunächst eine entschieden saure Reaktion erteilen, um es entschieden positiv aufzuladen.

5 ccm Blutserum werden mit 50 ccm n/50 HCl verdünnt. In eine Reihe von Reagenzgläsern bringt man von dieser Lösung je 2 ccm. Wir probieren dann aus, wieviel ccm einer Salzlösung man hinzugeben muß, damit eine deutliche Trübung entsteht. Wir machen eine Versuchsreihe mit molaren Lösungen von den unten angegebenen Salzen und erhalten folgende Resultate:

1) KCl, selbst nach Zugabe von 12 ccm noch keine Trübung.
2) KBr, nach 0,75 ccm starke Trübung.
3) KJ, nach 0,5 ccm starke Trübung.
4) KSCN, nach 0,2 ccm starke Trübung.

(Von einer Auffüllung auf gleiches Volumen wurde hier Abstand genommen.)

Ändern wir also nur die Anionen, so nimmt ihre fällende Wirkung in der Reihenfolge zu: Cl, Br, J, SCN. Das ist die Hofmeistersche Anionenreihe, welche häufig, und nicht nur

[1]) L. Michaelis, Biochem. Zeitschr. 59, 166; 1914.

Digitized by Google

in der Kolloidchemie, wiederkehrt. So ist der Einfluß dieser Salze auf die Löslichkeit der Aminobenzoesäure in jeder Beziehung dieser Erscheinung analog[1]).

8. Übung.

Die Hofmeisterschen Ionenreihen mit Hämoglobin[2]).

Ein gutes Objekt, an dem man die Ionenreihen studieren kann, ist das käufliche sogenannte „Hämoglobin", weil es einerseits bei neutraler, saurer und alkalischer Reaktion löslich ist (wie Albumin, im Gegensatz zu Kasein, Globulin) und andrerseits auch bei Anwendung schwer flockender Salze schon in mäßigen Salzkonzentrationen gefällt wird (im Gegensatz zu Albumin oder Gelatine). Man stellt eine 2proz. Lösung von Hämoglobin „klar löslich, pulverisiert" (Merck) her, indem man das Pulver erst mit sehr wenig Wasser in der Reibschale gut anrührt und allmählich mehr Wasser zufügt, schließlich filtriert.

Man stellt folgende Reihen von Salzlösungen an, deren Volumen je 8 ccm beträgt, und fügt zu jeder Lösung je 2 ccm Hämoglobinlösung:

1. 2n K_3-Zitrat ccm	2	4*	
Wasser	6	4	
2. 0.5 mol. K_2SO_4	4	8*	
Wasser	4	0	
3. K-Azetat, 2m	2	4*	
Wasser	6	4	
4. KCl gesättigt = 3,5 mol.	4	6*	8
Wasser	4	2	0
5. KNO_3 gesättigt = 2,4 mol.	8*		
Wasser	0		
6. KCNS gesättigt = etwa 14 mol.	8	(überhaupt keine Flockung)	
Wasser	0		

1 mol. $(NH_4)_2SO_4$	0,5	1*	2
Wasser	7,5	7	6
1 mol. Na_2SO_4	0,5	1*	2
Wasser	7,5	7	6
Li_2SO_4 Gesättigte Lösung (= 2,3 mol.)	8*	4	
Wasser	0	4	
$CaCl_2$ oder $MgCl_2$ 0,01 mol.	8	4*	2
Wasser	0	4	6
$AlCl_3$ Gesättigte Lösung (= etwa 9 mol.)	5*	2,5	1,25
Wasser	3	5,5	6,75

[1]) Lundén, Svensk. Vet. Akad. Arkiv f. Kemi **2**, 11. 1905; s. auch H. Euler, Chemie der Enzyme, 2. Auflage. 1920. S. 61. Hier wird dieselbe Ionenreihe bei der Beeinflussung der Löslichkeit der o-Aminobenzoesäure durch Neutralsalze beschrieben.

[2]) Entnommen aus Wo. Ostwald, Kleines Praktikum der Kolloidchemie. Dresden und Leipzig, Theod. Steinkopf, 1920.

Digitized by Google

Diejenige Konzentration, welche sofort eine Trübung erzeugt, ist mit * bezeichnet.

Vergleicht man die verschiedenen K-Salze, so ist die Reihenfolge der Anionen nach steigendem Fällungsvermögen:

Rhodanid, Nitrat, Chlorid, Azetat, Sulfat, Zitrat.

Vergleicht man die verschiedenen Sulfate oder die verschiedenen Chloride, so ist die Reihenfolge der Kationen nach steigenden Fällungsvermögen

Li, Na, K, NH_4.

Dies gilt für die neutrale Hämoglobinlösung.

In alkalischer Lösung findet sich folgendes:

2 ccm gesättigte (4 mol.) Lösung von $(NH_4)_2SO_4$ + 6 ccm Wasser + 6 Tropfen 1nNaOH, mit 2 ccm Hämoglobin: sofort Flockung.

8 ccm gesättigte (8 mol.) Lösung von NH_4CNS + 6 Tropfen 1nNaOH + 2 ccm Hämoglobin: flockt nicht.

Die Reihenfolge Rhodanid — Sulfat ist also dieselbe geblieben.

In saurer Lösung:

2 ccm 1fach mol. $(NH_4)_2SO_4$ + 6 ccm Wasser + 6 Tropfen nHCl + 2 ccm Hämoglobin: flockt sofort.

2 ccm 0,2 mol. NH_4CNS + 6 ccm Wasser + 6 Tropfen nHCl + 2 ccm Hämoglobin: flockt sofort.

Die Reihenfolge der Anionen hat sich umgekehrt: Rhodanid flockt stärker als Sulfat.

Die Reihenfolge der Kationen dagegen kehrt sich bei diesen Säurekonzentrationen nicht um; nur ist der absolute Betrag der Schwellenwerte anders, z. B.

alkalisch	Li	1 Mol	NH_4	0,8 Mol	K	0,5 Mol
sauer	Li	0,13 Mol	NH_4	0,04 Mol	K	0,025 Mol

III. Einige Versuche über optische Inhomogenität.

9. Übung.

Gute Versuche über die optische Auflösbarkeit einer Lösung sind nur mit dem Ultramikroskop von Siedentopf und Zsigmondy mit Küvetteneinrichtung anzustellen; die „Ultrakondensoren" sind für das Studium kolloidaler Lösungen nur ein schwacher Ersatz. Andrerseits kann ein Siedentopfsches Ultramikroskop heute in einem Laboratorium kaum vorausgesetzt werden. Die Erscheinung der Eiweißkörnchen mit Brownscher Molekularbewegung im Ultrakondensor (Parbaloidkondensor und

Digitized by Google

ähnliche) bei Beobachtung von verdünntem Serum oder Reizserum kann vom bakteriologischen Kurs her als bekannt angesehen werden, wo man beim Aufsuchen der Spirochäten Gelegenheit hat sie zu sehen.

Einige Grunderscheinungen über optische Inhomogenität kann man mit Hilfe einer starken Lichtquelle ohne mikroskopische Vorrichtung studieren. Am besten eignet sich dazu die Bogenlampe, die in jedem Laboratorium zu dem Ultrakondensor benutzt wird.

Man fülle in ein Reagenzglas ein sehr stark verdünntes Mastixsol (wie S. 9) und lasse den Lichtkegel, den man durch eine vorgehaltene Sammellinse (Lupe) von der Lichtquelle erhält, in die Lösung fallen. Man sieht den Lichtkegel hell aufleuchten: Tyndallsches Phänomen. Betrachtet man diesen Lichtkegel durch ein Nicolsches Prisma, so erscheint er bei Drehung des Nicol um seine Achse bald hell, bald ist er kaum sichtbar; die Drehung des Nicol von der Stellung: hell bis zu der Stellung: dunkel beträgt 90°. Das von den Teilchen abgebeugte Licht ist also stark (wenn auch nicht vollkommen) linear polarisiert.

Auch in fluoreszierenden Lösungen (sehr verdünnte Lösungen von Eosin, Fluorescein, Chinin) sieht man den Lichtkegel in der Farbe der Fluoreszenz. Dieser ist aber nicht polarisiert, er ändert seine Lichtstärke beim Drehen des Nicol nicht. Das Fluoreszenzlicht entsteht an den einzelnen Molekülen, es ist nicht polarisiert. Das abgebeugte Licht in kolloiden Lösungen entsteht an den gröberen, schwebenden Teilchen derselben und ist polarisiert.

Bei farbigen Kolloiden hat das abgebeugte Licht oft eine andere (nicht selten komplementäre) Farbe als das durchfallende Licht. Dann ist es mit Hilfe des Nicol möglich zu entscheiden, ob Fluoreszenz oder farbige Lichtbeugung, „Pseudofluoreszenz“ vorliegt.

Pseudofluoreszenz kann man z. B. folgendermaßen beobachten: Man löse einige Körnchen Indophenol in Alkohol und verdünne sehr stark mit destilliertem Wasser. Die blaue alkoholische Lösung behält ihre blaue Farbe im durchfallenden Licht; aber Indophenol ist in Wasser nicht eigentlich löslich, sondern bildet ein Sol wie Mastix. Bei seitlicher Beleuchtung mit der Bogenlampe sieht man einen rotbraunen Lichtkegel, der sich als polarisiert erweist.

Eine sehr stark verdünnte wäßrige (kolloide) Lösung von Berlinerblau ist im durchfallenden Licht blau, im seitlichen Licht der Bogenlampe zeigt sich ein roter Lichtkegel, der sich ebenfalls als Pseudofluoreszenz erweist.

Digitized by Google

Eine aufs äußerste verdünnte wäßrige Lösung von Nilblau zeigt eine Erscheinung von äußerlich ganz gleicher Beschaffenheit wie die vorige; aber es ist echte Fluoreszenz, das Licht ist nicht polarisiert. Versetzt man diese Nilblaulösung mit NaOH, so färbt sie sich für gewöhnliche Betrachtung rötlich, genau in dem Ton der soeben beschriebenen Fluoreszenz. Der Lichtkegel hat in diesem Falle die gleiche Farbe, aber er ist polarisiert, d. h.: die freie Nilblaubase ist in Wasser nicht löslich, sondern bildet (als Vorstadium ihrer Ausflockung) eine kolloide Lösung.

Mit der Dispersitätsänderung ist häufig eine Farbänderung verbunden; der Sinn der Farbenänderung ist nicht einheitlich. Z. B. ändert sich die Farbe bei Goldsol oder bei Kongorubin von Rot nach Blau bei zunehmender Teilchengröße, bei Nilblau (Toluidinblau u. a.) von Blau nach Rot bei zunehmender Teilchengröße.

IV. Die Bestimmung der Wasserstoff-Ionen durch Indikatoren.

a) Die Sonderstellung der H·- und OH′-Ionen.

Es ist nicht möglich, einen klaren Einblick in die Wirkungen irgendwelcher Ionen zu erhalten, ohne jedesmal auch die H·- und OH′-Ionen mit zu berücksichtigen. Denn niemals beobachten wir in wäßriger Lösung die reine Wirkung eines Elektrolyten, d. h. eines Ionenpaares, sondern stets in Konkurrenz mit dem Ionenpaar $H^{\cdot} + OH'$, welches in keiner wäßrigen Lösung fehlt. Da nun diese beiden Ionen zu den wirksamsten gehören, so muß man sie sogar in etwa „neutralen" Lösungen, in denen ihre Menge minimal ist, aufs genaueste berücksichtigen. Alles was wir im vorigen Abschnitt an Flockungsschwellenwerten kennen lernten, kann nur als vorläufig betrachtet werden und wird durch das, was uns z. B. die Übungen 18 bis 20 zeigen werden, ein ganz anderes Gesicht bekommen. Ein kleines Beispiel für die Wichtigkeit dieser Betrachtungen: Wir bestimmten die Flockungsschwelle eines Mastixsol für NaCl in „neutraler Lösung". Wenn wir diesen Wert messen, beantworten wir in Wirklichkeit nur die Frage: „Welche Konzentration an Cl-Ionen hebt die dispergierende Wirkung der OH′-Ionen der neutralen Lösung auf und summiert sich mit der flockenden Wirkung der H·-Ionen in neutraler Lösung so, daß sichtbare Flockung entsteht?" Es gibt gar

Digitized by Google

keine absolute Schwelle für die Cl′-Wirkung, sondern nur eine relative Schwelle, welche auf eine ganz bestimmte OH′-Konzentration der Lösung bezogen werden muß und bei geringfügigsten Änderungen der OH′-Konzentration sich ebenfalls ändert. Unsere „neutrale" Mastixlösung ist aber meist in Wirklichkeit gar nicht genau neutral, und so hat der Schwellenwert des Cl′ gar keine wertvolle innere Bedeutung, wenn wir nicht angeben, für welche OH′-Konzentration er gilt.

Oder ein anderes Beispiel: Alle oberflächenaktiven Stoffe haben, wie J. Traube fand, eine hohe pharmakologische Wirksamkeit. Nun sind die Alkaloide bedingt oberflächenaktive Stoffe (siehe 33. Übung), d. h. die Oberflächenspannung ihrer Lösung ist abhängig von den gleichzeitig in Lösung befindlichen Ionen, und unter diesen wiederum in besonders hohem Maße von den OH′-Ionen. Fragt man nun nach der Wirkungsschwelle z. B. des Chinin auf einen fermentativen Prozeß, oder auf den Schwellenwert für seine bakterizide Wirkung in einer Bakterienaufschwemmung, so ist dieser Schwellenwert nicht absolut, sondern nur in bezug auf die H·-Konzentration der Lösung anzugeben, und er muß mit dieser variieren. Diese Beispiele ließen sich beliebig vermehren.

Die Dosierung und Messung der H·-Ionen erfordert aber besondere Methoden. Wollen wir einer Lösung eine bestimmte Konzentration an Cl-Ionen erteilen, so fügen wir einfach die gewünschte Menge NaCl hinzu; da dieses weitgehend dissoziiert ist, ist die Cl′-Konzentration fast gleich der NaCl-Konzentration. Fügen wir aber einer Lösung etwas Essigsäure hinzu, so dissoziiert diese nur zu einem winzigen Bruchteil, und wir können nicht ohne weiteres voraussagen, welche H·-Ionen-Menge wir der Lösung hinzufügen. Die Dosierung und Bestimmung der H·- und OH′-Ionen erfordert also besondere Methoden: zur Dosierung brauchen wir die Regulatoren oder Puffer, zur Bestimmung gibt es hauptsächlich zwei Methoden, die elektromotorische und die Indikatorenmethode. Wir lernen zunächst die letztere kennen.

Die Sonderstellung der H·- und OH′-Ionen zeigt sich schon darin, daß in wäßriger Lösung beinahe alle Elektrolyte sehr stark dissoziiert sind, mit Ausnahmen der Säuren und Basen, von denen es zahllose, sehr schwach dissoziierende gibt. Dies gilt aber nur für wäßrige Lösungsmittel oder, allgemeiner gesagt, für Lösungsmittel mit hoher Dielektrizitätskonstante. In organischen Lösungsmitteln von sehr niederer Dielektrizitätskonstante („Ölen") scheint die Dissoziation von Salzen, Säuren und Basen erstens überhaupt sehr gering zu sein, und zweitens scheint der für wäßrige Lösungen so bedeutsame Unterschied zwischen schwachen

Digitized by Google

und starken Säuren zu verschwinden. Die Erforschung dieser Verhältnisse ist einer künftigen Periode vorbehalten; wichtige Anfänge dazu findet man in R. Beutner, „Die Entstehung elektrischer Ströme in lebenden Geweben", Stuttgart 1920. Da Phasen aus „ölartigen" Stoffen im lebenden Gewebe eine wichtige Rolle spielen, darf man sich ihrer Bedeutung nicht verschließen und muß sich bewußt bleiben, daß alle Erscheinungen und Methoden, die in den folgenden Übungen gezeigt werden, nur für wäßrige Lösungen gelten.

b) Maßeinheit und Schreibweise.

Die Konzentration der H-Ionen wird ausgedrückt in Gramm-Ion pro Liter. Das Symbol für Konzentration der H^+-Ionen ist C_{H^+}, oder $[\overset{+}{H}]$, oder $[H^\cdot]$. Wir werden im folgenden einfach h schreiben und „Wasserstoffzahl" sprechen.

Das Symbol p_h, der „Wasserstoffexponent"[1]), hat folgende Bedeutung:

$$p_h = -\overset{10}{\log} h = \log \frac{1}{h}$$

Die Konzentration der OH'-Ionen werden wir oh (Hydroxylzahl) schreiben, und entsprechend den Hydroxylexponenten

$$p_{oh} = -\overset{10}{\log} oh = \log \frac{1}{oh}$$

definieren.

Das Produkt $h \cdot oh = k_w$ ist die Dissoziationskonstante des Wassers. Es ist in jeder wäßrigen Lösung, ob sauer, neutral oder alkalisch

$$h \cdot oh = k_w \text{ , oder}$$
$$p_h + p_{oh} = p_{kw},$$

p_{kw} bedeutet, entsprechend dem obigen, $-\overset{10}{\log} k_w$.

k_w beträgt	bei 18°	$0{,}72 \cdot 10^{-14}$	bei 37°	$3{,}2 \cdot 10^{-14}$
p_{kw} „	„ 18°	14,14	„ 37°	13,50

Neutrale Reaktion ist charakterisiert durch folgenden Zustand:

bei 18° $h = oh = 0{,}85 \cdot 10^{-14}$; $p_h = p_{oh} = 7{,}07$
„ 37° $h = oh = 1{,}77 \cdot 10^{-14}$; $p_h = p_{oh} = 6{,}76$.

Bei saurer Reaktion ist $h >$ bei neutraler Reaktion
$p_h <$ „ „ „
$oh <$ „ „ „
$p_{oh} >$ „ „ „

[1]) S. P. L. Sörensen, Biochem. Zeitschr. **21**, 131. 1909.

Digitized by Google

Von den gebräuchlichen Indikatoren hat seinen Farbenumschlag:

Methylorange etwa bei $p_h = 4{,}5$
Methylrot „ „ $p_h = 6$
Lackmus „ „ $p_h = 7$
Phenolphtalein „ „ $p_h = 8{,}5$

p_h des strömenden Blutes ist = 7,35 bis 7,40
des Harnes . . . . . 5 bis 7,
des gewöhnlichen, nicht von CO_2 befreiten destillierten Wassers . . . . . gegen 6, sogar bis 5
des frischen Wasserleitungswassers . . . . . 7,4.

Beispiel für die Umrechnung von h und p_h:

1) Es sei $h = 2 \cdot 10^{-5}$,
dann ist
$h = \log 2 + \log 10^{-5}$,
$= 0{,}30 - 5 = -4{,}70$
$p_h = +4{,}70$.

2) Es sei $p_h = 6{,}70$,
dann ist $\log h = -6{,}70 = +0{,}30 - 7$
$h = 2{,}0 \cdot 10^{-7}$.

Einer geometrischen h-Reihe mit dem Quotienten 2, also z. B.

$1 \cdot 10^{-5}$ $2 \cdot 10^{-5}$ $4 \cdot 10^{-5}$ $8 \cdot 10^{-5}$

entspricht die arithmetrische p_h-Reihe mit der Differenz 0,3, also

5,0 4,7 4,4 4,1

Also eine Reihe, welche dem geforderten Prinzip der geometrischen Abstufung der h Genüge leistet, ist in bezug auf p_h eine arithmetrische Reihe.

Zum bequemeren Umrechnen von h in p_h und umgekehrt wird am Schluß des Buches eine dreistellige Logarithmentafel gegeben. Die erste Stelle des Numerus ist in der ganz linken Vertikalreihe, die zweite (bzw. zweite und dritte) in der obersten Horizontalreihe abzulesen. Neben jeder Mantisse steht der sich zu 1000 ergänzende Wert derselben, den man für die Rechnung von p_h braucht.

Diese Tafel enthält noch eine Mantissenstelle mehr, als zur Angabe von p_h in Anbetracht der erreichbaren Genauigkeit der Messung erforderlich wäre. Man runde p_h immer auf 2 Dezimalen ab.

Digitized by Google

Die Stellenzahl dieser Tafel reicht übrigens für die meisten im Laboratorium vorkommenden Aufgaben aus. Sie kann allgemein als Logarithmentafel benutzt werden. Sowohl Multiplikation wie Division der Numeri kann in Addition von Mantissen verwandelt werden. Für die Multiplikation benutzt man die obere, für die Division die untere, kursiv gedruckte Mantisse zum Addieren.

10. Übung.

Die Regulatoren oder Puffer.

a) In einem Gemisch einer schwachen Säure mit einem ihrer Salze ist h fast ausschließlich von dem Verhältnis von Säure zu Salz abhängig, kaum aber von der absoluten Menge derselben. Verdünnen mit Wasser ändert also h nicht oder kaum. Diese dem Anfänger paradox klingende Tatsache kann man sich in elementarer Weise folgendermaßen zurechtlegen. Eine schwache Säure ist immer nur wenig dissoziiert, und diese Dissoziation wird durch ihre Salze noch herabgedrückt. Verdünnt man nun das Säure-Salzgemisch, so wird die Säurekonzentration zwar geringer, aber in demselben Grade wird auch das dissoziationsvermindernde Vermögen des Salzes geringer.

Man bereite eine normale Lösung von kristallisiertem Natriumazetat ($CH_3COONa + 3H_2O$), indem man 13,61 g auf 100 ccm destilliertes Wasser löst, ferner eine normale Lösung von Essigsäure (titriert gegen n-NaOH mit Phenolphtalein als Indikator). Aus diesen Lösungen bereite man $^1/_{10}$ normale Lösungen durch Verdünnung. Man stelle folgende 4 Mischungen zur Demonstration der Pufferwirkung an:

Nr.	1	2	3	4
0,1 normales Natriumazetat ccm	5	7	8,5	9
0,1 normale Essigsäure ccm	5	3	1,5	1

Die Abstufung der Reihe ist nicht nach irgendeinem Reihenprinzip getroffen, sondern nur mit Rücksicht auf die günstigen Farbentöne des Indikators.

In eine zweite Reihe von 4 Röhrchen bringe man zunächst 8 ccm Wasser und gieße aus jedem Röhrchen der ersten Reihe ungefähr 1 ccm in das entsprechende Röhrchen der zweiten Reihe. Nun gebe man in alle 8 Röhrchen einen bis zwei Tropfen Methylrot (0,1 g in 300 ccm 90proz. Alkohol und 200 ccm Wasser), jedenfalls in alle Röhrchen die gleiche Menge. In den ersten 4 Röhrchen durchläuft die Farbe alle Nuancen von rein

Digitized by Google

rot bis rein gelb. Jedes Röhrchen der zweiten Reihe entspricht in seiner Farbe dem entsprechenden Röhrchen der ersten Reihe fast völlig, trotzdem die Lösung aufs 10 fache verdünnt ist. h hängt also nur von dem (molaren) Verhältnis von freier Essigsäure zu Natriumazetat ab, und zwar ist angenähert

$$h = k \cdot \frac{\text{(freie Säure)}}{\text{(Na-Salz der Säure)}} \qquad (1)$$

k ist die Dissoziationskonstante der betreffenden Säure; diese beträgt in runden Zahlen für

Weinsäure	$1 \cdot 10^{-3}$
Milchsäure	$1{,}5 \cdot 10^{-4}$
Essigsäure	$2 \cdot 10^{-5}$
primäres Natriumphosphat	$2 \cdot 10^{-7}$

Das primäre Natriumphosphat wird hier als eine Säure betrachtet; ihr zugehöriges Natriumsalz ist das sekundäre Natriumphosphat. Für starke Säuren wie HCl gilt die obige Regel nicht.

Die obige Formel (1) für h ist nur eine angenäherte. Meist ist h ein wenig größer, als dieser Formel entspricht. Es ist also genauer

$$h = k' \cdot \frac{\text{(freie Säure)}}{\text{(Na-Salz der Säure)}}$$

wo k' ein wenig größer ist als die aus Leitfähigkeitsmessungen bestimmte Dissoziationskonstante k der Säure. Die Größe von k' hängt vom Gesamtelektrolytgehalt der Lösung ab; sie nähert sich bei sehr geringem Elektrolytgehalt dem wahren k, ist bei einem Salzgehalt von etwa 0,1 normal meist um 10 bis 15%, bei 1 normal um etwa 25% größer. Es ist also nur eine kleine Differenz, die aber bisweilen wohl berücksichtigt werden muß.

Die Deutung dieser Tatsache war bis vor kurzem folgende: Da das Maßgebliche für die unter dem Bruchstrich stehende Größe nur die durch Dissoziation aus dem Na-Salz gebildeten Säure-Ionen sind, das Salz aber nicht total dissoziiert ist, so muß die Konzentration des Na-Salzes unter dem Bruchstrich noch mit dem Dissoziationsgrad δ desselben multipliziert werden, welcher je nach der Konzentration wechselt und stets < 1 ist. Neuerdings hat sich die Auffassung[1]) geltend gemacht, daß die Na-Salze immer praktisch total dissoziiert sind, daß aber die

[1]) N. Bjerrum, Z. f. Elektrochemie 24, 321. 1918.

Digitized by Google

aktive Masse der Ionen (im Sinne des Massenwirkungsgesetzes) in ionenreichen Lösungen infolge elektrostatischer Wechselwirkung dieser Ionen aufeinander verringert ist.

b) Man mische 10 ccm n-Essigsäure + 1 ccm n-Natriumazetat (p_h etwa = 3,7) und gebe einen Tropfen Methylorange zu (ebenso gelöst, wie oben das Methylrot). Die Lösung färbt sich orange. In ein zweites Reagenzglas gebe man 10 ccm physiologische ClNa-Lösung, einen Tropfen Methylorange und tropfenweise so viel 0,01 nHCl, daß die Farbnuance ungefähr ebenso wird, wie in der Azetatmischung. In beide Röhrchen gebe man jetzt 0,5—0,6 ccm einer 1proz. Gelatinelösung. Während die Farbe in dem Azetatröhrchen ungeändert bleibt, wird sie in dem HCl-Röhrchen rein gelb. Die Azetatmischung wird also durch Zusatz eines säurebindenden Stoffes (Gelatine) in ihrer h nur wenig geändert, eine HCl-Lösung von gleicher Anfangs-h wird stark geändert.

Die beiden Säurelösungen haben, wie man sich ausdrücken kann, die gleiche Säure-Intensität, aber eine verschiedene Säure-Kapazität. Haben wir also die Aufgabe, irgendeiner Lösung eine bestimmte h zu erteilen, so versetzen wir sie mit einem Puffer, welcher diese h hat, und die Aufgabe ist wenigstens angenähert gelöst. Dies ist die Methode, nach der wir die h dosieren. Wir müssen aber durch eine Messung der h nachträglich kontrollieren, inwieweit diese Dosierung gelungen ist. Die Dosierung ist nur eine angenäherte, da ja die Säurekapazität eines Puffers nicht unendlich groß ist; die wirklich durch den Puffer erzeugte h muß durch eine Messung genauer festgestellt werden.

11. Übung.

Die Bestimmung der Wasserstoffzahl mit Indikatoren nach Sörensen[1]) (mit Puffern).

Das Prinzip der Methode ist folgendes: Es wird eine Reihe geeigneter Stammlösungen vorrätig gehalten, durch deren verschiedenartige Mischung man jederzeit „Puffer"-Lösungen von ganz bestimmter h herstellen kann. Soll nun in irgendeiner Flüssigkeit h bestimmt werden, so gibt man einen geeigneten Indikator hinzu und probiert durch Mischen obiger Stammlösungen miteinander dasjenige Puffergemisch aus, welches diesem Indikator die gleiche Nuance erteilt wie der unbekannten Lö-

[1]) S. P. L. Sörensen, Biochem. Zeitschr. **21**, 131. 1909.

Digitized by Google

sung. Die h der verschiedenen Pufferlösungen sind durch die elektrometrische Methode (s. Kap. XII) ein für allemal geeicht. Die h der unbekannten Lösung ist dann gleich der der farbgleichen Pufferlösung.

Von den Stammlösungen sind für die zunächst aufgestellte Übungsaufgabe, die h im frischen Wasser der Wasserleitung zu bestimmen, nur zwei erforderlich.

1. Eine $^1/_{15}$ molare Lösung von primärem Kaliumphosphat („nach Sörensen", von Kahlbaum).

9,078 g dieses Salzes werden in destilliertem Wasser gelöst und auf einen Liter aufgefüllt. Das Wasser wird für diesen Zweck zur Austreibung der Kohlensäure kurz vorher in einem verzinnten Kupfergefäß oder in einem Kolben aus Jenaer Glas zum Sieden erhitzt, 5 Minuten im Sieden erhalten und unter kohlensäuresicherem Verschluß abgekühlt. Dieser Verschluß wird hergestellt durch einen durchbohrten Gummistopfen, dessen Bohrung mit einem Natronkalkrohr verschlossen ist. Das Salz wird zunächst in einem Maßkolben in dem noch ziemlich warmen Wasser gelöst, nach dem völligen Erkalten auf einen Liter aufgefüllt und sofort in eine Wulffsche Flasche eingegossen (Fig. 1); die eine Öffnung der Flasche wird mit einem Vorlagegefäß mit Natronkalk verbunden, die andere mit einer Bürette mit automatischer Nullpunktseinstellung. Die obere Öffnung der Bürette ist mit einem Natronkalkaufsatz verschlossen. Das obere Ende dieses Aufsatzes wird in der Regel mit einem Stopfen verschlossen, der nur während des Gebrauchs abgenommen wird. Auch die äußere Öffnung der Natronkalkvorlage ist im Ruhezustand mit einem

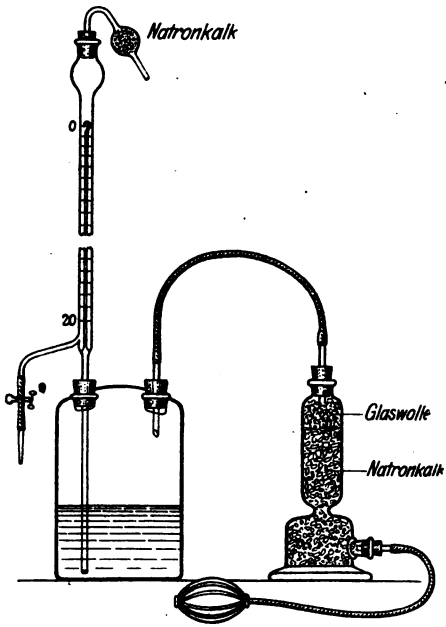


Fig. 1. Vorratsgefäß mit Bürette für die Stammlösungen.

Digitized by Google

Stopfen verschlossen, der während des Gebrauchs durch einen Ventilgummiball ersetzt wird.

2. Eine $^1/_{15}$ molare Lösung von „sekundärem Natriumphosphat nach Sörensen“ (Kahlbaum). 11,876 g von diesem Salz werden genau in derselben Weise zu 1 Liter gelöst und in derselben Weise aufbewahrt.

3. Einige Indikatoren: Methylrot (nach Palitzsch) 0,1 g gelöst in 300 ccm etwa 93proz. Alkohol + 200 ccm destilliertem Wasser.

p-Nitrophenol, 0,4 g in 60 ccm Alkohol + 90 ccm Wasser.

Neutralrot 0,01proz. Lösung in 1 Liter 50proz. Alkohol.

α-Naphtholphtalein (nach Sörensen und Palitzsch), 0,1 g in 150 ccm Alkohol + 100 ccm Wasser.

Phenolphtalein 0,5 g gelöst in 1 Liter 50proz. Alkohol.

Auswahl des passenden Indikators.

In ein Reagenzglas füllt man 10 ccm ungefähr 0,5 normale Salzsäure, in ein zweites ebensoviel 0,1 normale Natronlauge. In beide Röhrchen gibt man die gleiche Menge, z. B. 5 Tropfen, Methylrot. Man erkennt hier, welche Farbe der Indikator bei extrem saurer und bei extrem alkalischer Reaktion hat. Genau dasselbe macht man mit allen anderen Indikatoren. Nunmehr nimmt man so viel Reagenzgläser mit je 10 ccm der zu untersuchenden Lösung (also frischem Wasserleitungswasser) als man Indikatoren hat, und fügt in jedes wiederum 5 Tropfen je eines Indikators. Es wird nun einige Röhrchen geben, bei denen hier der Indikator dieselbe extreme Nuance hat wie entweder in der Salzsäure oder in der Natronlauge. Diese Indikatoren sind für den vorliegenden Fall unbrauchbar. Einen Indikator aber wird man finden, der eine Übergangsfarbe zwischen den Extremen zeigt. Diesen muß man für die weitere Untersuchung wählen. Dieses ist in unserem Fall Neutralrot.

Die eigentliche Bestimmung der h.

10 ccm der zu untersuchenden Flüssigkeit werden mit einer für die Farbabschätzung angenehmen Menge des auserwählten Indikators versetzt, in unserem Fall 2 Tropfen Neutralrot. Die Zahl der Tropfen muß ganz genau festgestellt werden. Sie müssen aus einer gleichmäßig tropfenden Pipette ganz langsam abgetropft werden. Nunmehr füllt man in ein Reagenzglas 5 ccm der obigen sekundären Phosphatlösung und 5 ccm der primären Phosphatlösung, und in dieses Gemisch genau die gleiche Menge desselben Indikators. Man prüft nun durch Farbenvergleichung, ob das Phosphatgemisch saurer ist als die unbekannte Lösung oder alkalischer. Je nach dem Befund stellt

Digitized by Google

man nun ein neues Phosphatgemisch her, von dem man annehmen kann, daß es bei der Prüfung mit demselben Indikator der unbekannten Lösung ähnlicher wird; z. B. 6 ccm sekundäres Phosphat + 4 ccm primäres Phosphat, so daß das Gesamtvolumen der Phosphatmischung immer 10 ccm ist. Diese Mischung nennt man „Phosphatgemisch 6". Und so stellt man immer neue Phosphatmischungen her, bis man das Zutreffende gefunden hat. Das kann dann als erreicht betrachtet werden, wenn man ein Gemisch hat, welches eben ein wenig zu sauer ist, und eines, welches ein wenig zu alkalisch ist. Dazwischen wird schließlich dasjenige Phosphatgemisch ausprobiert, welches nicht mehr zu unterscheiden ist. Dies wird für frisches Leitungswasser in der Regel das Phosphatgemisch „8,4" sein. Die Farbvergleichung muß gegen einen etwa 10 cm entfernten Untergrund von rein weißem Schreibpapier erfolgen. Die Betrachtung geschieht am besten, indem man von oben her durch die ganze Länge des Reagenzglases blickt. Die Gläser müssen genau gleiches Lumen haben. Sie werden vor dem Versuch daraufhin genau geprüft. p_h der unbekannten Flüssigkeit ist nunmehr gleich dem des farbgleichen Phosphatröhrchens. Das p_h der Phosphatgemische kann aus einem Diagramm entnommen werden, welches von Sörensen durch elektromotorische Bestimmung geeicht ist. Dieses Diagramm ist gleichzeitig für andere Puffergemische gezeichnet. Man liest es z. B. folgendermaßen.

Um p_H eines Phosphatgemisches aus 8,4 ccm sekundärem + 1,6 ccm primärem Phosphat zu finden, sucht man auf der Ordinate 8,4. Die Horizontale, welche von diesem Punkt ausgeht, schneidet die „Phosphatkurve" an einem bestimmten Punkt. Dieser, auf die Abszisse projiziert, zeigt $p_h = 7{,}48$. Dies ist ungefähr der Wert, den man im Leitungswasser zu finden pflegt.

Abgestandenes Wasser aus der Wasserleitung ist infolge von CO_2-Verlust alkalischer, d. h. Neutralrot wird mehr gelb, das farbgleiche Phosphorgemisch ist nicht mehr „8,4", sondern etwa „9" und darüber. Man koche ferner eine Probe Leitungswasser kurz auf und überzeuge sich von der sehr bedeutenden Änderung von p_h im Sinne zunehmender Alkalität.

Das Diagramm enthält auch die Werte für die anderen Pufferlösungen, zu deren Herstellung man folgende Stammlösungen braucht:

„Glykokoll" bedeutet eine Lösung von 7,505 g Glykokoll und 5,85 NaCl auf 1 Liter Wasser.

„Salzsäure" ist 0,1 n-Salzsäure.

„Natron" ist ein 0,1 n-Natronlauge, frei von CO_2. Sie wird

Digitized by Google

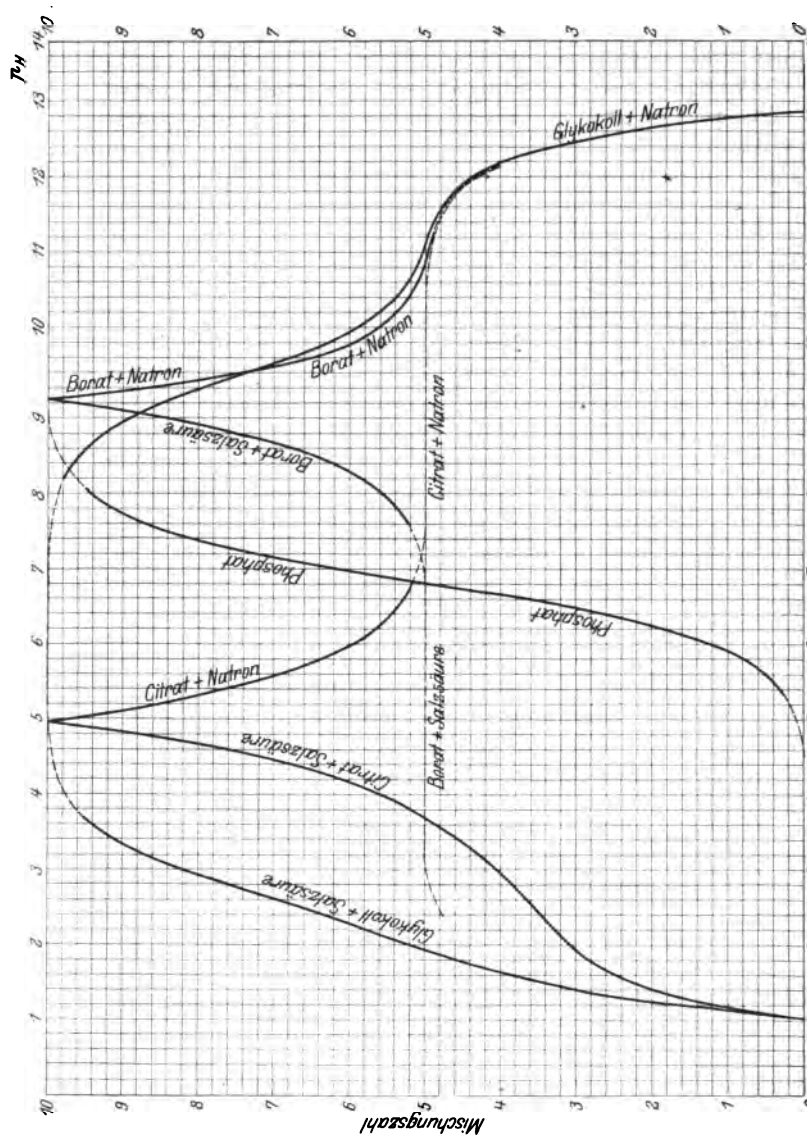


Fig. 2. Puffer-Diagramm von Sörensen. Die punktierten Kurvenabschnitte sind schlecht reproduzierbar und sollen nicht verwendet werden.

Digitized by Google

hergestellt, indem man in einem hohen, mit gefettetem Glasstöpsel verschlossenen Zylinder Ätznatron zur Sättigung in Wasser löst, so daß noch reichlich Bodenkörper bleibt, oft durchschüttelt, mehrere Tage, besser Wochen, bis zur Klärung sedimentieren läßt und dann von einer abgehobenen Probe unter den schon oben beschriebenen Vorsichtsmaßregeln gegen das Eindringen von CO_2 eine Lösung des gewünschten Titers herstellt. Die so hergestellte Lauge ist CO_2-frei, da Na_2CO_3 in der konzentrierten Lauge unlöslich ist.

„Zitrat" ist eine Lösung von 21,008 g Zitronensäure + 200 ccm n-Natronlauge, auf 1 Liter aufgefüllt.

„Borat" ist eine Lösung von 12,404 g Borsäure und 100 ccm n-Natronlauge, auf 1 Liter Wasser aufgefüllt.

Alle diese Lösungen müssen in der oben angegebenen Weise mit CO_2-freiem Wasser hergestellt und CO_2-sicher aufbewahrt werden.

Beispiel für die Anwendung des Diagramms für diese Puffer: Um für eine Mischung von 6 ccm Zitrat + 4 ccm Salzsäure (Summe stets 10 ccm) p_h zu finden, sucht man den Schnittpunkt der Horizontalen „6" mit der Kurve „Zitrat + Salzsäure" und liest an der Abszisse $p_H = 4{,}18$ ab.

Die oben genannten Indikatoren umspannen nur eine beschränkte Reihe von p_H. Eine Auswahl geeigneter Indikatoren für ein größeres Bereich ist folgende:

Indikator	Farbenumschlag alkal.—sauer	Anwendbarkeit für p_h =	Herstellung der Lösung
Tropäolin 00	gelb—rot	1,4—2,6	0,1 ‰ wäßr. Lösung
Rotkohlauszug	blau—rot	2,0—4,5	500 g zerschnittener Rotkohl, 2 Tage in 500 g 96 % Alkohol, dann filtriert.
Methylorange	gelb—rot	3,1—4,4	0,1 ‰ wäßr. Lösung
Methylrot	gelb—rot	4,2—6,3	0,1 g in 300 Alk. + 200 Wass.
p-Nitrophenol	gelb—farblos	4,0—6,4	0,1 g in 15 „ + 235 „
Neutralrot	gelb—rot	6,5—8,0	0,1 g in 500 „ + 500 „
α-Naphtholphtalein	blaugrün—graugelb	7,3—8,7	0,1 g in 150 „ + 100 „
Phenophtalein	rot—farblos	8,3—10,0	0,1 g in 100 „ + 100 „
Thymolphtalein	blau—farblos	9,3—10,5	0,1 g in 125 „ + 125 „
Alizaringelb R	rot—gelb	10,1—12,1	0,1 ‰ wäßr. Lösung

Schöne Indikatoren für die Sörensensche Methode mit prachtvollen Farbenübergängen sind folgende, von Lubs und Clark[1]) angegebenen:

[1]) Herbert A. Lubs und William Clark, Journal of Washington

Digitized by Google

Chem. Bezeichnung	Gewöhnliche Bezeichnung	P_H-Gebiet	Farbenumschlag	Konzentration der anzuwendenden alkoholischen Lösung
Thymolsulfophtalein	Thymolblau	1,2—2,8	rot—gelb	0,04 %
Tetrabromphenolsulfophtalein	Bromphenolblau	3,0—4,6	gelb—blau	0,04 %
o-Carboxy-benzol-azo-dimethylanilin	Methylrot	4,4—6,0	rot—gelb	0,02 %
Dibrom-o-kresolsulfophtalein	Bromkresolpurpur	5,2—6,8	gelb—purpur	0,04 %
Dibrom-thymolsulfophtalein	Bromthymolblau	6,0—7,6	gelb—blau	0,04 %
Phenol-sulfophtalein	Phenolrot	6,8—8,4	gelb—rot	0,02 %
o-Kresol-sulfophtalein	Kresolrot	7,2—8,8	gelb—rot	0,02 %
Thymolsulfophtalein	Thymolblau	8,0—9,6	gelb—blau	0,04 %
o-Kresolphtalein	Kresolphtalein	8,2—9,8	farblos—rot	0,02 %

12. Übung.

Der Salzfehler der Indikatoren.

Neben den H-Ionen haben auch andere Ionen einen Einfluß auf die Nuance eines Indikators; die meisten allerdings erst in sehr hohen Konzentrationen. In salzreichen Lösungen sind daher die p_h-Messungen mit Indikatoren mit einem kleinen Fehler behaftet, der je nach Art und Konzentration des Salzes sowie nach dem angewandten Indikator verschieden ist. Physiologische Salzlösungen machen bei den hier ausgewählten Indikatoren nur sehr kleine Fehler, die meist nicht berücksichtigt zu werden brauchen. Da der „Salzfehler" der Indikatoren aber eine sehr instruktive theoretische Vorbereitung für andere biologisch wichtige Salzwirkungen darstellt, soll er an einem Beispiel gezeigt werden:

Man mischt in vier verschiedenen Röhrchen in gleicher Weise je 4,5 ccm m/15 primäres Phosphat und 4,5 ccm m/15 sekundäres Phosphat (wie oben), und gibt dazu

in Röhrchen Nr.	1	2	3	4
gesättigte (etwa 3,5 molare) KCl-Lösung	0	1	0	1
destilliertes Wasser	1	0	1	0

Acad. of Sciences **5**, 609, 1915 und Clark und Lubs, Journal of Bacteriol. **2**, 1, 1917 und besonders das empfehlenswerte Buch: The Determination of Hydrogen Ions, von W. Mansfield Clark, Baltimore. 1920.

Digitized by Google

Dann bringt man in Lösung 1 und 2 einige Tropfen Lackmuslösung (nach Kubel-Thiemann), in 3 und 4 einige Tropfen Neutralrot. Vergleicht man nun die beiden Lackmusröhrchen, so ist ihre Farbe nahezu gleich, allenfalls ist das mit Salz ein Spürchen blauer. Wir würden daraus schließen, daß h durch den Salzzusatz gleich geblieben oder allenfalls ein Spürchen kleiner, d. h. p_h ein Spürchen größer geworden ist. Vergleichen wir aber die beiden Neutralrotröhrchen, so finden wir, daß das mit Salz deutlich röter ist, d. h. daß h durch den Salzzusatz entschieden größer (p_h kleiner) geworden ist. Infolge der Unstimmigkeit beider Indikatoren bei Gegenwart reichlicher Salzmengen haben wir Grund, die Richtigkeit beider Resultate zu bezweifeln.

Wenn wir nun auf die in der vorigen Übung angegebene Weise durch Aufsuchen des für den gleichen Indikator farbgleichen Phosphatgemisches p_h zu bestimmen suchen, so finden wir in den Röhrchen ohne Salz für beide Indikatoren gleichmäßig:

Das farbgleiche Gemisch ist das Phosphatgemisch „5", also $p_h = 6{,}81$.

In den Röhrchen mit Salz finden wir

für Lackmus: p_h ziemlich genau ebenfalls 6,81

für Neutralrot: Das farbgleiche Gemisch ist das Phosphatgemisch „3,4", also $p_h = 6{,}35$.

Zur Entscheidung dieses Dilemma versuchen wir eine andere Methode der h-Bestimmung zu Rate zu ziehen. Wenn man mit der an späterer Stelle beschriebenen elektrometrischen Methode in einem Röhrchen mit und ohne Salz p_h bestimmt, so finden wir:

ohne Salz: $p_h = 6{,}80$
mit Salz: $p_h = 6{,}56$.

Die Messung ohne Salz stimmt also mit beiden Indikatorenmessungen überein. Das ist selbstverständlich; denn die Indikatorenmethode ist auf Grund elektrometrischer Parallelmessungen mit salzarmen Pufferlösungen geeicht worden. Mit Salz dagegen zeigt uns die elektrometrische Messung einen Wert, der etwa in der Mitte steht zwischen dem Lackmus- und dem Neutralrotwert. Es ist nun theoretisch begründet, den elektrometrisch erhaltenen Wert als den „richtigen" anzusehen und alle Abweichungen, welche die Indikatoren in salzreichen Lösungen hiervon zeigen, als „Salzfehler" zu bezeichnen. Diese Fehler können bald negativ, bald positiv sein.

Digitized by Google

Wie Bjerrum gezeigt hat, ist auch das, was wir mit der Gaskette messen, bei Gegenwart größerer Mengen von Elektrolyten nicht genau die wahre Konzentration der H·, sondern eine Größe, welche er die „Wasserstoffaktivität", a_h, genannt hat. Diese ist je nach der Art und Menge der anwesenden Elektrolyte um einige Prozent kleiner als die wahre Konzentration der H·-Ionen und läßt sich theoretisch aus dieser ableiten. Das Wort „Aktivität" hat denselben Sinn wie die „aktive Masse" beim Massenwirkungsgesetz, welche in konzentrierteren Lösungen ja auch nicht der wahren Konzentration genau proportional ist.

Die chemische Reaktionsfähigkeit der H-Ionen im Sinne des Massenwirkungsgesetzes geht nun, ebenso wie ihre elektromotorische Wirksamkeit, der „aktiven Masse" derselben, nicht ihrer wahren Konzentration proportional. Dieser Umstand gibt uns die Berechtigung, die mit der elektrometrischen Methode erhaltenen Werte als die Standardwerte zugrunde zu legen. Denn die chemische Reaktionsfähigkeit der H·-Ionen einer Lösung ist es vor allem, die wir durch eine solche Messung ermitteln wollen.

Zum Schluß sei noch einmal darauf hingewiesen, daß bei physiologisch in Betracht kommenden Salzkonzentrationen diese Salzfehler immer sehr klein sind. Alle angegebenen Indikatoren sind daraufhin ausgewählt, daß sie möglichst kleine Salzfehler geben, d. h. daß ihre Angaben sich auch bei Gegenwart mäßiger Salz- oder Eiweißmengen mit den elektrometrischen Messungen möglichst decken.

Alle diese Umstände bewirken, daß die Unsicherheit aller p_h-Messungen mit irgendeiner Indikatorenmethode meist mehrere Einheiten der zweiten Dezimale von p_h beträgt.

13. Übung.

Die Bestimmung der Wasserstoffzahl mit Indikatoren ohne Puffer[1].

Die Methode läßt sich am einfachsten mit sogenannten einfarbigen Indikatoren, die von farblos in eine Farbe umschlagen können, anwenden. Sie beruht auf folgendem Prinzip: Man versetzt 10 ccm der zu untersuchenden Lösung mit einer abgemessenen Menge eines Indikators. Ist der Indikator geeignet, so wird er weder ganz farblos sein, noch diejenige maximale Farbtiefe zeigen, die er in stark alkalischer Lösung haben würde. Die maximale Farbtiefe haben die hier verwendeten Indikatoren in 0,01 n-NaOH; stärkere Lauge vertieft die Farbe nicht weiter. Man stellt nun durch einen Reihenversuch fest, wieviel Indikator man zu 10 ccm 0,01 n-NaOH zusetzen muß, um dieselbe Farbtiefe zu erhalten, wie in der unbekannten Lösung. Man wird für die Lauge weniger Indikator brauchen. Das Verhältnis dieser Indikatormenge zu jener anderen nennen wir den Farbgrad, F. Dieser muß stets

[1] L. Michaelis und A. Gyemant, Biochem. Zeitschr. **109**, 165. 1920.

Digitized by Google

< 1 sein. Aus ihm läßt sich h der zu untersuchenden Lösung berechnen nach der Formel

$$h = k \cdot \frac{1 - F}{F}.$$

Hier bedeutet k eine für den angewendeten Indikator charakteristische Zahl, die Indikatorkonstante.

Wir stellen uns, wie in der vorigen Übung, die Aufgabe, die h des frischen Wasserleitungswassers zu bestimmen. Der hierfür geeignete Indikator ist m-Nitrophenol, 0,3 g unter mäßigem Erwärmen in 100 ccm destilliertem Wasser gelöst. Man füllt in ein Reagenzglas 10 ccm des zu untersuchenden Wassers und dazu 0,50 ccm des Indikators. In 2—3 Minuten hat der Indikator seinen definitiven Farbton angenommen. Nun füllt man in eine Reihe von ganz gleichmäßigen Reagenzgläsern zunächst je 9 ccm einer aus nNaOH frisch hergestellten 0,01 nNaOH. (Es kommt gar nicht auf genauen Titer an; man kann ebensogut 0,02 n-NaOH nehmen). Nun stellt man eine 10fache Verdünnung des Indikators mit destilliertem Wasser her und gibt in das erste der mit Lauge versetzten Gläser 0,5 ccm des verdünnten Indikators, in das zweite 1,0 ccm, in das dritte 2,0 ccm; also eine geometrische Reihe mit dem Quotienten 2. Schließlich füllt man die drei Gläser mit 0,1 nNaOH auf das Volumen der zu untersuchenden Lösung auf, welches einschließlich des zugesetzten Indikators 10,5 ccm beträgt. Vergleicht man der Reihe nach die Farben dieser Gläser, so findet man, daß das erste zu hell, das dritte zu dunkel, das mittlere ungefähr richtig ist. Für den Vergleich darf man immer nur die zwei zu vergleichenden Röhrchen nebeneinander halten, bei guter Beleuchtung gegen einen rein weißen Hintergrund aus nicht allzu naher Entfernung von demselben. Man blickt am besten von oben durch die Röhrchen, jedoch ist manchmal auch die Betrachtung durch die Seitenwand vorteilhaft.

Nunmehr engt man die Beobachtung durch eine feiner abgestufte Reihe ein, am besten mit dem Quotienten 1,2 oder sogar 1,15. Wir hatten 1,0 ccm in der groben Reihe am besten gefunden; wir fügen also Versuche mit 1,2 und 1,44, sowie mit 0,83 und mit 0,69 ccm verdünnten Indikators hinzu. Wir finden als definitives Resultat, daß 1,0 ccm richtig ist, 1,2 schon zu viel, 0,83 zu wenig ist. In der zu untersuchenden Lösung war 1,0 ccm Indikator, in der farbgleichen Lauge 1,0 ccm des 10fach verdünnten Indikators. Der Farbgrad ist also $= 0{,}10$. Um die obige Formel anwenden zu können, müssen wir noch den k-Wert

Digitized by Google

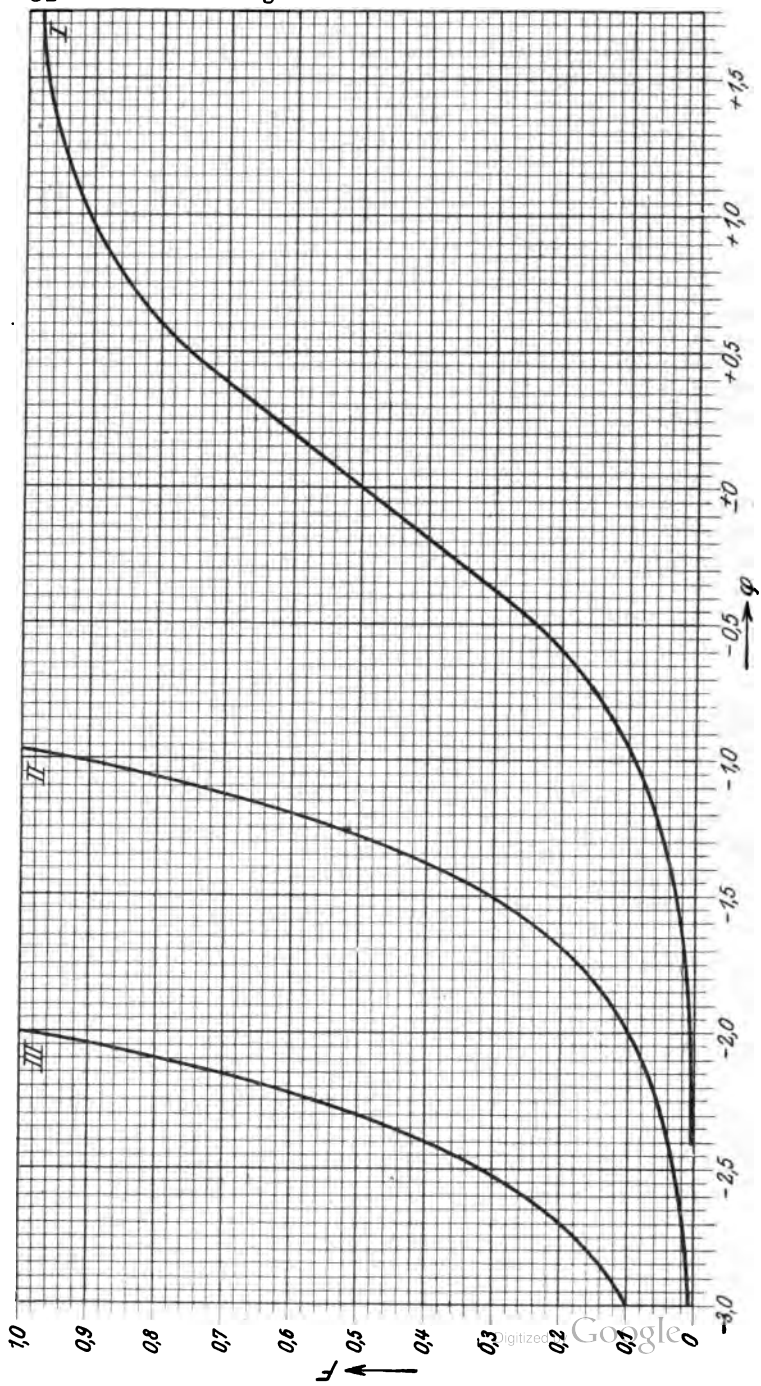


Fig. 3. Diagramm für die Indikatorenmethode ohne Puffer,

Digitized by Google

für m-Nitrophenol kennen. Er beträgt (für Zimmertemperatur) $4{,}5 \cdot 10^{-9}$. Also ist

$$h = \frac{1 - 0{,}10}{0{,}10} \cdot 4{,}5 \cdot 10^{-9} = 40{,}5 \cdot 10^{-9} = 4.05 \cdot 10^{-8}.$$

Will man p_h ausdrücken, so ist

$$\log h = 0{,}61 - 8 = -7{,}39,$$
$$p_h = 7{,}39.$$

Dieser Wert wird mit einem kleinen Spielraum (etwa $\pm$ 0,05) im Leitungswasser stets gefunden, wenn es nicht durch Abstehen CO_2 verloren hat. Hiermit ist die Bestimmung beendet.

Um bei häufigerer Benutzung der Methode aus der Farbvergleichung sofort p_h zu finden, logarithmieren wir die Gleichung (S. 33, oben)

$$\log h = \log k + \log \frac{1 - F}{F}$$

und daher

$$p_h = p_k + \log \frac{F}{1 - F},$$

wenn wir unter p_k den „Indikatorexponenten", den negativen Logarithmus der Konstanten (analog p_h) verstehen. Die folgende Tabelle 1 gibt für einige geeignete Indikatoren die Werte für p_k an. Sie sind bei verschiedenen Temperaturen etwas verschieden, aber dafür können wir mit dieser Methode p_h auch bei beliebiger Temperatur bestimmen. Aus dem Diagramm Fig. 3, Kurve I, kann für jedes beliebige experimentell gefundene F der Wert von $\log \frac{F}{1 - F}$ abgelesen werden. Die Ordinate ist F, die Abszisse $\varphi = \log \frac{F}{1 - F}$. Da Werte dieses Logarithmus $< 0{,}1$ schwer abgelesen werden können, ist der Anfang der Kurve in Kurve II mit 10fach vergrößertem und in Kurve III mit 100fach vergrößertem Ordinatenmaßstab dargestellt. (Die Ordinatenwerte muß man bei der Ablesung durch 10 (bzw. 100) dividieren, die Abszissenwerte aber gelten unverändert.)

Digitized by Google

Tabelle I.

Temperatur	p_k 10°	18°	20°	30°	40°
β-Dinitrophenol	3,74	**3,69**	3,68	3,62	3,56
α-Dinitrophenol	4,11	**4,06**	4,05	3,99	3,93
p-Nitrophenol	7,27	**7,18**	7,16	7,04	6,93
m-Nitrophenol	8,43	**8,35**	8,32	8,21	8,09
Phenolphtalein	—	—	—	—	—
m-Nitrobenzol-Azosalizylsäure	—	—	—	—	—

50° C	Herstellung der Lösung	Anwendungsbereich p_h
3,51	gesättigte wäßrige Lösung	1,7— 4,4
3,85	„ „ „	2,0— 4,7
6,81	0,1 proz. wäßrige Lösung	4,7— 7,9
7,99	0,3 „ „ „	6,3— 9,0
—	0,1 g in 75 Alkohol + 175 Wasser	8,5—10,5
—	0,1 g „ 100 „ + 100 „	10,2—12,0

Alle diese Indikatoren schlagen von gelb (alkalisch) nach farblos (sauer) um, nur Phenolphtalein von rot nach farblos.

Für Phenolphtalein und m-Nitrobenzol-Azosalizylsäure findet man die zugehörigen Werte für F und p_h bei 18° Zimmertemperatur aus folgenden Tabellen.

Phenolphtalein

F	p_h	F	p_h	F	p_h
0,01	8,45	0,16	9,10	0,55	9,80
0,014	8,50	0,21	9,20	0,60	9,90
0,030	8,60	0,27	9,30	0,65	10,0
0,047	8,70	0,34	9,40	0,70	10,1
0,069	8,80	0,40	9,50	0,75	10,2
0,090	8,90	0,45	9,60	0,80	10,3
0,120	9,00	0,50	9,70		

m-Nitrobenzol-Azosalizylsäure

F	p_h	F	p_h
0,13	10,00	0,56	11,20
0,16	10,20	0,66	11,40
0,22	10,40	0,75	11,60
0,29	10,60	0,83	11,80
0,36	10,80	0,88	12,00
0,46	11,00		

Digitized by Google

14. Übung.

Messung von p_h nach derselben Methode im Harn als Beispiel für eine gefärbte Flüssigkeit.

Man nehme für die Bestimmung einen klaren sauren Harn. Als Vergleichslösung benutzt man anstatt der im vorigen Beispiel angewendeten 0,01 nNaOH folgende Lösung: 100 ccm des Harns werden tropfenweise mit so viel starker NaOH versetzt, bis ein Pröbchen der Flüssigkeit, mit einem Tropfen Phenolphtaleinlösung versetzt, kräftig rot wird. Der entstehende Phosphatniederschlag wird durch leichtes Erwärmen zum Zusammenballen gebracht und abfiltriert. Vergleicht man nun eine Probe des ursprünglichen Harns mit diesem Filtrat, so ist letzteres gewöhnlich etwas dunkler. Das ganze Filtrat wird nun durch sorgfältig ausprobierten Zusatz von Wasser so weit verdünnt, bis eine Probe bei der Vergleichung mit dem ursprünglichen Harn die gleiche Farbe zeigt.

Nun versetzt man 10 ccm des ursprünglichen Harns mit Indikator. Für normalen Harn ist p-Nitrophenol der geeignete Indikator. (Man wird bisweilen etwas mehr Indikator brauchen, als bei ungefärbten Flüssigkeiten.) Die Indikatorverdünnungen macht man, statt in 0,01 n-Natronlauge, in dem alkalisierten Harn. So enthält jedes Röhrchen außer dem Indikator auch noch den Harnfarbstoff. Die Genauigkeit der Bestimmung steht der in der ungefärbten Flüssigkeit kaum nach. Da durch den wechselnden Zusatz des Indikators zu dem Harnfarbstoff nicht nur die Farbtiefe, sondern auch die Nuance geändert wird (von Bräunlich-Gelb nach Grünlich-Gelb), so kommt das Aufsuchen der Farbgleichheit zum Teil auf das Suchen der gleichen Nuance heraus. Sonst ist die Methode und die Berechnung wie in der vorigen Übung. Über das zu erwartende Resultat beim Harn siehe die nächste Übung.

Bei starker Eigenfarbe des Harns kann die Farbenvergleichung schwieriger werden. Man kann dann von folgendem Kunstgriff Gebrauch machen. Da der Harn die Eigenschaften eines Puffers hat, kann man ihn verdünnen, ohne daß die h sich merklich ändert. Als Verdünnungsflüssigkeit benutzt man am besten eine Neutralsalzlösung von ungefähr gleicher Konzentration. Man kann also statt des Harns selbst eine etwa 3—4fache Verdünnung desselben in 2proz. NaCl-Lösung benutzen und mit dieser alle die beschriebenen Manipulationen vornehmen. Dasselbe gilt auch für die folgende, 15. Übung. Zur Verdünnung

Digitized by Google

von Nährbouillon benutzt man in gleicher Weise 3—4 Volumina $^1/_2$—1 proz. NaCl-Lösung.

Magensaft dagegen dürfte nicht verdünnt werden, weil seine h von der Verdünnung nicht unabhängig ist. Er eignet sich für diese Methode überhaupt nicht.

15. Übung.

P_h-Messung nach der Indikatoren-Methode in einer gefärbten oder getrübten Flüssigkeit mit Zuhilfenahme des Walpoleschen[1]) Prinzips.

Es soll p_h in einem normalen sauer reagierenden Harn nach der Indikatoren-Methode ohne Puffer gemessen werden. Um die Eigenfarbe des Harns auszuschalten, kann man auch einen Kunstgriff anwenden, den man das Walpolesche Prinzip nennt. 10 ccm Harn (bzw. 3fach mit 2proz. NaCl-Lösung verdünnter Harn) werden in einem Reagenzglas mit einer genau abgemessenen Menge (0,5—1,0 ccm) p-Nitrophenol versetzt. Eine zweite Probe von 10 ccm Harn wird statt des Indikators mit der gleichen Menge Wasser versetzt. Nun stellt man sich wie in Übung Nr. 13 stufenweise Verdünnungen des Indikators in $\frac{n}{100}$ NaOH her, überall mit dem gleichen Gesamtvolumen wie das Röhrchen mit Harn + Indikator. Die Farbenvergleichung geschieht nun auf folgende Weise:

Man hält den nicht mit Indikator gefärbten Harn und je eine der Laugen-Indikatorverdünnung gegen das Licht so dicht hintereinander, daß man durch beide zugleich (von der Seite, nicht von oben) hindurchblickt. Daneben hält man zum Vergleich den mit dem Indikator gefärbten Harn. Auf diese Weise kann man gefärbte, ja sogar etwas getrübte Flüssigkeiten mit derselben Leichtigkeit untersuchen wie farblose.

Bei normalem Harn finde man beispielsweise, wenn 0,75 ccm Indikator zum Harn gesetzt werden, Farbengleichheit bei demjenigen Laugenröhrchen, welches 0,30 ccm 10fach verdünnten Indikators enthält. Der Farbgrad ist dann also gleich 0,030 : 0,75 = 0,040 und somit $p_h = 7{,}16 - 1{,}34 = 5{,}82$. Im Harn findet man p_h zwischen 5 und 7.

Dieselbe Übung wiederhole man mit Nährbouillon, am besten nach Verdünnung mit 2—3 Teilen physiologischer NaCl-Lösung. Indikator: m-Nitrophenol, p_h gewöhnlich 7,0—7,3, bei frisch

[1]) G. S. Walpole, Biochem. Journ. **5**, 207. 1910.

Digitized by Google

ausgekochter Bouillon sogar bis 8. Die Farbenvergleichung gelingt sowohl bei Harn wie bei Bouillon sehr scharf, obwohl die Eigenfarbe oberflächlich betrachtet der des Indikators so ähnlich scheint.

Sehr angenehm ist es, wenn man die Farbenvergleichung in einem Holzkästchen mit geeigneten Löchern für die Reagenzgläser vornimmt. Dadurch wird das Seitenlicht abgeblendet und die Stellung der beiden Gläschen, die sich überdecken sollen, wird genau geregelt. Ein solcher Walpolescher „Komparator" kann folgendermaßen hergestellt werden[1]). In einen massiven Holzblock werden sechs zylindrische Löcher eingebohrt (Fig. 4) von solchem Durchmesser, daß sie gewöhnliche Reagenzgläser fassen können, in 2 Reihen zu je 3 Löchern. Die Bohrung soll so tief gehen, daß die Reagenzgläser noch etwas herausragen, wenn sie ganz eingesetzt sind. Der Zwischenraum zwischen der ersten und der zweiten Reihe soll so eng sein, wie es noch möglich ist, ohne daß das Holz beim Bohren bricht. Senkrecht zu diesen Löchern werden drei etwas engere Löcher durch den ganzen Block hindurchgebohrt; jedes derselben kreuzt je ein vorderes und ein hinteres Loch. Diese Löcher sind zum Durchblicken bestimmt. Der Kasten und die Löcher sind geschwärzt. Je ein vorderes und ein hinteres Reagenzglas bildet ein Paar. Das mittlere Paar besteht aus 1. der zu untersuchenden Lösung (Harn, Bouillon) + Indikator, 2. Wasser. Das eine seitliche Paar besteht aus 1. der zu untersuchenden Lösung ohne Indikator; statt dessen mit so viel Wasser, als im ersten Paar Indikator zugesetzt wurde (um die Eigenfarbe auf die gleiche Verdünnung zu bringen); 2. der Indikatorverdünnung, deren Stärke so lange ausprobiert wird, bis Farbgleichheit besteht. Das andere seitliche Paar kann in der gleichen Weise dazu benutzt werden, um gleichzeitig noch eine zweite Indikatorverdünnung einzusetzen.

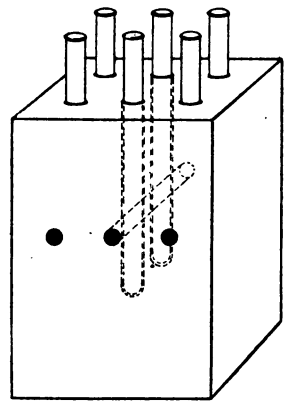


Fig. 4. Walpolescher Komparator.

[1]) Komparator von Hurwitz, Meyer und Ostenberg. Proc. Soc. Exp. Biol. Med. **13**, 24. 1915. Zitiert nach W. Mansfield Clark, The Determination of Hydrogen Ions. Baltimore 1920, S. 57. Der Komparator wird auf meine Veranlassung von E. Leitz, Berlin, Luisenstraße 45, angefertigt.

Digitized by Google

Dieser Komparator war ursprünglich für die ph-Bestimmung in gefärbten Lösungen nach der Sörensen'schen Methode (11. Übung) bestimmt, eignet sich aber für die Methode ohne Puffer ebenso gut.

16. Übung.

Der Unterschied zwischen aktueller Azidität und Titrationsazidität.

Die aktuelle Azidität einer Lösung ist identisch mit der h. Die Titrationsazidität ist ein Maß für ihr Laugenbindungsvermögen. Titriert man die Lösung einer starken Säure (HCl, HNO_3, H_2SO_4), so decken sich beide Begriffe. Es ist dann auch praktisch fast belanglos, mit welchem Indikator man titriert. Man titriere 10 ccm einer etwa $^1/_{10}$ nHCl-Lösung mit 0,1 nNaOH und verwende in drei Parallelversuchen als Indikator

a) Phenolphtalein (Lösung wie S. 29); man titriert bis zur eben beginnenden Rosafärbung.

b) Lackmustinktur nach Kubel-Tiemann; titrieren bis zum violetten Ton.

c) Methylorange (Lösung wie S. 29), bis zum völligen Verschwinden jedes roten Tons, d. h. so lange, bis der nächste Tropfen NaOH die schwach gelbe Farbe nicht mehr verändert.

Die drei Werte werden identisch sein; nehmen wir an genau 10 ccm, dann wäre also die titrierte HCl genau 0,1 n. Die h in dieser Lösung ist ebenfalls fast genau 0,1 n, wenn wir absehen von der nicht vollständigen Dissoziation[1]).

Wenn wir dagegen 10 ccm 0,1 n Essigsäure mit 0,1 nNaOH titrieren, so finden wir:

a) bei Phenolphtalein verbrauchen wir 10 ccm,

b) bei Lackmus nahezu ebensoviel,

c) Methylorange wird schon durch etwa 4—5 ccm Lauge gelb, und zwar so allmählich, daß ein Endpunkt der Titration nicht scharf angegeben werden kann; insbesondere hebt sich der erwartete Endpunkt der Titration (bei 10 ccm 0,1 n. Lauge) in keiner Weise heraus.

Wenn wir viertens in der 0,1 n-Essigsäure h nach der Methode S. 32 bestimmen, so finden wir rund $1{,}4 \cdot 10^{-3}$. Hier deckt sich h mit der Titrationsazidität gar nicht; die letztere ist sogar für verschiedene Indikatoren ganz verschieden.

Beim Titrieren ändert sich die h durch den Zusatz der Lauge schrittweise; der Endpunkt bei Phenolphtalein zeigt den

[1]) Oder besser von der Verminderung der H-Ionen-Aktivität nach Bjerrum; s. S. 31.

Digitized by Google

Durchgang durch p_H = etwa 8,5, Lackmus durch p_H = etwa 7, Methylorange durch etwa $p_H = 5$ bis 6 an.

Beim Titrieren einer starken Säure geschieht der Durchgang durch diese drei verschiedenen p_H so dicht hintereinander, daß es fast belanglos ist, welchen Indikator man wählt. Bei Essigsäure wird der Durchgang von $p_H = 6$ bis $p_H = 8{,}5$ erst durch eine große Menge Lauge bewirkt, daher ist die Wahl des Indikators von Bedeutung.

Beim Titrieren erfährt man also, außer bei einer Mineralsäure, niemals die h. Das Titrieren kann in zwei Absichten geschehen:

a) um festzustellen, wieviel Kubikzentimeter Lauge bis zur Erreichung der neutralen Reaktion erforderlich sind. Dann darf man nur Lackmus anwenden. Dieser Punkt ist oft nur unscharf zu bestimmen, weil p_h sich beim Laugenzusatz nur sehr allmählich ändert und daher eine sehr allmähliche Farbenänderung stattfindet. Die Feststellung dieses Punktes hat auch kaum jemals eine praktische Bedeutung.

b) um festzustellen, wieviel Äquivalente Essigsäure in der Lösung sind. Dann muß man so viel Lauge zufügen, daß eine reine Lösung von Natriumazetat resultiert, so daß der nächste Tropfen Lauge überschüssige Lauge ist. Der Indikator muß also diejenige h markieren, welche eine reine Natriumazetatlösung hat. Da Natriumazetat infolge hydrolytischer Dissoziation eine Spürchen alkalisch ist (p_h zwischen 7 und 8, je nach der Konzentration), so muß man Phenolphtalein wählen; derjenige Tropfen, welcher soeben Rötung hervorruft, zeigt p_h etwa = 8 an.

Beispiele für Lösungen, welche gleiche h, aber verschiedene Titrationsazidität haben:

1. 0,0014 nHCl und 0,1 n-Essigsäure haben gleiche h, rund $= 1{,}4 \cdot 10^{-3}$. Die Titrationsazidität mit Phenolphtalein gegen 0,1 nNaOH ist für HCl kaum meßbar klein (140 ccm verbrauchen 1 ccm Lauge); 10 ccm der Essigsäure verbrauchen dagegen 10 ccm Lauge.

2. Man stelle eine Mischung von 20 ccm n-Essigsäure + 10 ccm nNaOH her, und von dieser Mischung zweitens eine 10fache Verdünnung. In beiden Lösungen ist h die gleiche (s. S. 23), etwa $2 \cdot 10^{-5}$. 10 ccm der ersteren Lösung mit 0,1 nNaOH und Phenolphtalein titriert verbrauchen 33 ccm 0,1 nNaOH; 10 ccm der zweiten 3,3 ccm Lauge.

Sehr lehrreich ist die Titration einer wäßrigen Lösung von Phosphorsäure. Primäres Natriumphosphat NaH_2PO_4 reagiert gegen Methylorange soeben noch sauer; ein Tropfen überschüssige

Digitized by Google

Lauge entfärbt Methylorange zum reinen Hellgelb. Sekundäres Natriumphosphat Na_2HPO_4 reagiert gegen Phenolphtalein gerade eben deutlich alkalisch, so daß ein Tropfen Säure den Indikator gerade entfärbt. Tertiäres Natriumphosphat Na_3PO_4 reagiert stark alkalisch und verhält sich gegen Phenolphtalein wie Lauge. Wenn man Phosphorsäure gegen 0,1 nNaOH titriert, wobei man Methylorange (wenig!) und Phenolphtalein gleichzeitig zugeben kann, so braucht man zur Erreichung des Phenolphtaleinumschlags genau doppelt soviel Lauge als für den Methylorangeumschlag. Als Methylorange-Endpunkt muß derjenige gelten, wo noch eine Spur Orange sichtbar ist, derart, daß der nächste Tropfen das reine blasse Gelb erzeugt; dieser „nächste" Tropfen wird nicht mehr mitgerechnet. Der Phenolphtaleinumschlag ist bei demjenigen Tropfen Lauge erreicht, wo ein (nicht nur andeutungsweise sichtbares, sondern ein) deutliches Rot auftritt; dieser Tropfen muß mitgerechnet werden. Am besten macht man sich die Endpunkte der Titration dadurch deutlich, daß man eine Lösung von verdünntem primärem Kaliumphosphat (s. S. 25) mit Methylorange, und eine Lösung von sekundärem Natriumphosphat mit Phenolphtalein daneben stellt. Die Endpunkte sind auf 1—2 Tropfen genau bestimmbar.

17. Übung.

Titration von Magensaft[1]).

Die Titration des Magensaftes kann in angenäherter Weise auf zwei Fragen Antwort geben:

1. Wie groß ist die h des Magensaftes? Diese Frage ist deshalb von Bedeutung, weil das Pepsin zur optimalen Entfaltung seiner Wirksamkeit einer engbegrenzten Zone der h bedarf (p_p 1,7 bis 2). Die Frage kann man auch formulieren: Wie groß ist die Menge der „freien HCl"?

2. Wieviel HCl hat der Magen überhaupt sezerniert? („Gesamte HCl".) Denn da im Magen säurebindende Stoffe (Eiweiß, Pepton) sind, so bleibt nicht die ganze sezernierte HCl „frei".

Die erste Frage könnte durch eine p_H-Messung nach einer der beschriebenen Methoden, mit Anwendung des Walpoleschen Prinzips ausgeführt werden. Exakter ist sie mit der Gaskette (s. später) zu beantworten. In angenäherter Weise kann sie auch durch das folgende Titrationsverfahren gelöst werden. Der Beweis

[1]) L. Michaelis, Biochem. Zeitschr. 79, 1. 1917.

Digitized by Google

für die Richtigkeit des Verfahrens wurde durch Vergleichung mit p_H-Bestimmungen empirisch erbracht.

Man gibt 10 ccm des filtrierten Magensaftes ohne weitere Verdünnung in eine weiße Porzellanschale und gibt 2 Tropfen einer 0,1 proz. alkoholischen Lösung von Dimethylaminoazobenzol hinzu. Bei Anwesenheit freier HCl färbt sich die Lösung rosenrot. Man titriert, bis eben eine Spur Orange durchschimmert, d. h. bis etwa ein lachsfarbener Ton entsteht. Dieser Umschlag ist zwar nicht haarscharf, aber immerhin auf 2—3 Tropfen genau anzugeben. Ein richtiges Orange ist jedenfalls zu weit titriert. Das ist der Endpunkt für die Titration der freien HCl. Ist dieser Punkt z. B. bei 3 ccm $^1/_{10}$ n-Lauge erreicht, so heißt das: 10 ccm Magensaft enthalten so viel freie HCl wie 3 ccm $^1/_{10}$ nHCl. In der Magenchemie sagt man gewöhnlich: die Azidität in bezug auf freie HCl ist 30 (die Anzahl der für 100 ccm Magensaft verbrauchten ccm 0,1 n-Lauge). Die Konzentration an freier HCl ist demnach 0,03 n, und die h ebensogroß, wenn man die für den gegebenen Genauigkeitsgrad genügend zutreffende Annahme macht, daß die freie HCl total dissoziiert sei; p_h ist daher = 1,5.

Die gesamte HCl erfährt man folgendermaßen: Man fügt in dieselbe Lösung nunmehr (wenn man will, schon vorher) noch 2 Tropfen Phenolphtalein und titriert weiter, bis die reine zitronengelbe Farbe des Dimethylaminoazobenzol erreicht ist, welche gar kein Orange mehr enthält. Man titriert so weit, daß der nächste Tropfen Lauge keine weitere Veränderung der Farbe mehr hervorruft (dieser Tropfen rechnet dann nicht mehr mit), und notiert die Laugenmenge. Nun titriert man noch weiter bis zur beginnenden Phenolphtalein-Rötung und notiert die Laugenmenge wieder. Die Mitte zwischen den beiden Notierungen gibt das Ende der gesamten Salzsäure an; z. B.

10 ccm Magensaft verbrauchen

bis	Dimethylaminoazobenzol	lachsfarben	3,0 ccm
„	„	rein gelb	5,0 „
„	Phenolphtalein	rosa	7,4 „

Dann ist das Ende der freien HCl bei 3,0 ccm
„ „ „ gesamten HCl bei 6,2 ccm
h ist dann = 0,030 n.

In der Ausdrucksweise der Magenchemie ist

die freie HCl 30
die gesamte HCl 62
die gebundene HCl 32

Digitized by Google

Färbt sich ein Magensaft mit Dimethylaminoazobenzol von vornherein nur lachsfarben oder gar orange oder gelb, so enthält er nach dieser Definition „keine freie HCl". Die Definition des „Mangels an freier HCl" ist mit absoluter objektiver Schärfe nicht zu geben; die obige willkürliche Definition wird deshalb als einzig praktisch anwendbare empfohlen.

Enthält der Magensaft Milchsäure, so ist deren Azidität in die Titration der „gesamten HCl" inbegriffen. Die Titration der gesamten HCl durch Indikatoren ist daher nur bei praktischer Abwesenheit von Milchsäure möglich.

Die Zahlen für sehr kleine Mengen gesamter HCl (Aziditäten von 10 und darunter) haben keinen strengen Wert mehr; unter solchen Bedingungen werden die Voraussetzungen für die Methode unsicher. Für die Fragestellung der Klinik reicht die Methode stets aus.

V. Fällungsoptima bei variierter Wasserstoffzahl.

Das Prinzip der h-Reihe mit Salzkonstanz[1]).

Will man den Einfluß der h auf den Zustand irgendeiner Lösung untersuchen, so können wir das durch einen Reihenversuch, in welchem durch passend gewählte Regulatoren die h in geometrischer Reihe (also p_h in arithmetischer Reihe) abgestuft ist. Nun haben aber auf die Zustände der verschiedenen Substanzen nicht allein die H-Ionen, sondern bald mehr, bald weniger auch andere Ionenarten einen Einfluß. Will man den reinen Einfluß der Variation der H-Ionen untersuchen, so muß man die andern Ionenarten innerhalb einer jeden einzelnen Reihe konstant halten. Das Problem ist also, eine Reihe von Lösungen herzustellen, in denen h ansteigt, die andern Ionenarten aber konstant bleiben. Dieses Problem ist mit völliger Exaktheit natürlich unlösbar, da man Änderungen von h nur durch Änderung der Zusammensetzung an den andern Ionen, mit denen sie im Gleichgewicht sind, erreichen kann. Mit einer praktisch durchaus genügenden Annäherung wird jedoch das Problem auf folgende Weise gelöst: Wir variieren in einer Reihe von Natriumazetat-Essigsäure-Gemischen nur die Menge der Essigsäure und halten die Menge des Natriumazetat konstant (nicht aber umgekehrt!). Diese Lösungen enthalten alle 1. Na-

[1]) L. Michaelis und P. Rona, Biochem. Zeitschr. **27**, 38. 1910.

Digitized by Google

Ionen, 2. Azetat-Ionen, 3. H·-Ionen (4. OH'-Ionen, die nicht besonders betrachtet zu werden brauchen, weil ihre Menge stets durch die H-Ionen festgelegt ist; s. S. 20). Halten wir die Menge des Natriumazetat konstant, so bleibt die Menge der Na-Ionen sicher konstant; die Menge der Azetat-Ionen vermehrt sich nur dadurch, daß mit steigendem Zusatz von Essigsäure auch die Azetat-Ionen etwas mehr werden. Da aber die Essigsäure auf alle Fälle nur zu einem winzigen Bruchteil dissoziiert ist, so ist die von der Essigsäure gelieferte Azetat-Ionen-Menge zu vernachlässigen gegenüber der vom Natriumazetat gelieferten; und so bleibt praktisch auch die Menge der Azetat-Ionen konstant. Außer den H-Ionen ändert sich also in der Reihe nur die Menge der nichtdissoziierten Essigsäure. Diese trägt keine Ladung und ist für die meisten Fälle als indifferenter Stoff zu betrachten. Damit ist das Problem, in einer Reihe allein die h zu variieren, praktisch gelöst.

18. Übung.

Das Kristallisationsoptimum oder Löslichkeitsminimum der m-Aminobenzoesäure[1]).

Aminosäuren haben in ihrem isoelektrischen Punkt ein Kristallisationsoptimum, d. h. ein Löslichkeitsminimum. Die Schärfe dieses Optimums hängt von der Größe des Produktes $K_a \cdot K_b$ ab. (K_a = Dissoziationskonstante als Säure, K_b als Base.) Die größten vorkommenden Werte für $K_a \cdot K_b$ betragen nicht viel mehr als 10^{-16}. Bei solchen Aminosäuren ist das Kristallisationsoptimum ziemlich scharf ausgeprägt. Ist $K_a \cdot K_b$ kleiner, so hebt sich das Optimum viel weniger scharf heraus. Eine geeignete Aminosäure zur Demonstration eines ziemlich scharfen Kristallisationsoptimums ist m-Aminobenzoesäure mit $K_a = 1{,}6 \cdot 10^{-5}$, $K_b = 1{,}2 \cdot 10^{-11}$, also $K_a \cdot K_b$ = etwa $2 \cdot 10^{-16}$. Der isoelektrische Punkt J, d. h. diejenige h, bei der ein Maximum von nicht ionisierten Molekülen der Aminosäure vorhanden ist, steht in folgender Beziehung zu den Dissoziationskonstanten:

$$J = \sqrt{\frac{K_a}{K_b} \cdot K_w}$$

wo K_w die Dissoziationskonstante des Wassers, bei Zimmertemperatur $0{,}6 \cdot 10^{-14}$ ist. Also ist J angenähert:

[1]) L. Michaelis u. H. Davidsohn, Biochem. Zeitschr. **30**, 143. 1910.

Digitized by Google

$$J = \sqrt{\frac{1{,}6 \cdot 10^{-5}}{1{,}2 \cdot 10^{-11}} \cdot 0{,}6 \cdot 10^{-14}} = 9 \cdot 10^{-5}.$$

Um dies zu demonstrieren, setze man folgenden Versuch an. Man mische zunächst

Röhrchen Nr.	1	2	3	4	5
n-Essigsäure[1]) ccm . .	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0
außerdem noch n-Essigsäure ccm . .	0,19	0,38	0,75	1,5	3
10 fach n-Essigsäure ccm	—	—	—	—	—
destilliertes Wasser ccm	6,31	6,12	5,75	5,0	3,5
h etwa	$3{,}8 \cdot 10^{-6}$	$7{,}5 \cdot 10^{-6}$	$1{,}5 \cdot 10^{-5}$	$3 \cdot 10^{-5}$	$6 \cdot 10^{-5}$
p_h etwa	5,4	5,1	4,8	4,5	4,2

Röhrchen Nr.	6	7	8	9
n-Essigsäure[1]) ccm . .	1,0	1,0	1,0	1,0
außerdem noch n-Essigsäure ccm . .	—	—	—	—
10 fach n-Essigsäure ccm	0,6	1,2	2,4	4,8
destilliertes Wasser ccm	5,9	5,3	4,1	1,7
h etwa	$1{,}3 \cdot 10^{-4}$	$2{,}4 \cdot 10^{-4}$	$4{,}8 \cdot 10^{-4}$	$9{,}6 \cdot 10^{-4}$
p_h etwa	3,9	3,6	3,3	3,1

Nun löst man 1,3 g oder 1,0 g m-Aminobenzoesäure in 10 ccm nNaOH und füllt diese Lösung mit destilliertem Wasser auf 20 ccm auf. (Nimmt man 1,0 g, so wird das Kristallisationsoptimum äußerst scharf — sehr demonstrativer Versuch! —; nimmt man 1,3 g, wird es etwas unschärfer, aber immer noch schön erkennbar.) Von dieser Lösung gibt man in jedes der 9 Gläser 2,0 ccm. Hierbei kann die Aminosäure zunächst teilweise ausfallen. Man mischt die Röhrchen gut durch und stellt sie alle zusammen in ein warmes Wasserbad, bis alles wieder gelöst ist. Dann nimmt man sie aus dem Wasserbad und stellt sie in einem Reagenzglasgestell ins Zimmer. Gelegentlich schüttelt man um und beobachtet die Kristallisation. Sind die Röhrchen nahe bis Zimmertemperatur abgekühlt, so kann man auch die Kristallisation beschleunigen, indem man mit der Platinöse Spuren von Impfkristallen in alle Röhrchen einsetzt. Je nach den Umständen kann man, wenn die Temperatur sehr warm ist, den Eisschrank zu Hilfe nehmen, namentlich wenn man mit 1 g Aminosäure arbeitet.

[1]) Dieser 1 ccm n-Essigsäure dient dazu, um mit der später zugefügten Lauge (2 ccm 0,5 nNaOH, enthaltend die Aminosäure) Natriumazetat zu bilden.

Digitized by Google

Das Resultat ist folgendes: Am frühesten beginnt das Röhrchen Nr. 5 zu kristallisieren. Bei Verwendung von 1 g ist es schon zu einem dichten Filzwerk von Nadeln erstarrt, wenn die beiden Nachbarröhrchen noch nicht zu kristallisieren beginnen. Auch bei beliebig langem Warten schreitet die Kristallisation nach den beiderseitigen Nachbarröhrchen kaum weiter vor, nicht nur die Geschwindigkeit der Kristallisation ist in Nr. 5 am größten, auch die definitiv auskristallisierte Menge ist hier am größten.

Arbeitet man mit 1,3 g, so beginnt die Kristallisation ebenfalls am frühesten in Röhrchen Nr. 5; aber nach 1 Stunde ist die Kristallisation in Nr. 4, 5 und 6 fast gleich dicht. Von Röhrchen 7 ab tritt überhaupt keine Kristallisation ein; nach links ist der Übergang etwas allmählicher; nach 24 Stunden sind auch in Nr. 2 noch einige Kristalle. Die Einzelheiten hängen von der Temperatur ab, aber immer ist Röhrchen Nr. 5 das Optimum. Es entspricht $h = 6 \cdot 10^{-5}$ und ist dasjenige, welches dem berechneten isoelektrischen Punkt der Aminosäure ($9 \cdot 10^{-5}$) am nächsten steht.

Die Berechnung von h bzw. p_h aus der Zusammensetzung des Azetat-Regulators hat nur angenäherte Bedeutung; die Anwesenheit der Aminosäure ist dabei nicht berücksichtigt. Für genaue zahlenmäßige Feststellung des Optimums wird man sich mit der Berechnung von h nicht begnügen, sondern sie nach Beendigung des Versuchs in den Lösungen einzeln messen (am besten mit Hilfe der später zu besprechenden elektrometrischen Methode). Für diese Demonstration können wir uns das sparen, denn 1. ist aus theoretischen Gründen gerade im isoelektrischen Punkt kein Einfluß der Aminosäure auf h vorhanden, 2. sind bei dieser Versuchsanordnung die Abweichungen der wirklichen h von der berechneten selbst in den ungünstigsten Fällen nicht so groß wie der h-Unterschied von einem Röhrchen zum nächsten beträgt.

Für unsere Zwecke soll diese angenäherte Berechnung genügen. In wissenschaftlichen Arbeiten ist es aber unbedingt erforderlich, die h auch wirklich in jedem Röhrchen zu messen, wenn die absolute Größe der Zahl Anspruch auf Genauigkeit erheben will. Das gilt für alle folgenden Versuchsbeispiele ebenso.

Man vergegenwärtige sich, welche Verluste an Substanz man beim Umkristallisieren hat, wenn man die Aminobenzoesäure nicht genau bei optimaler h umkristallisiert!

Digitized by Google

19. Übung.

Das Fällungsoptimum des Kaseins bei variierter h[1]).

Ganz analog dem Löslichkeitsminimum der Aminobenzoesäure ist das Flockungsoptimum eines kolloiden Eiweißkörpers bei variierter h, das wir zuerst am Kasein kennen lernen wollen. Die Deutung kann auf zweierlei Weisen gegeben werden, welche keinen Gegensatz zueinander darstellen, sondern dasselbe in „zwei Sprachen" ausdrücken.

1. Entweder man sagt: reines Kasein ist unlöslich, die Kasein-Ionen, sowohl das positive (bei stark saurer Reaktion) wie das negative (bei alkalischer Reaktion) ist löslich. Infolgedessen muß es eine bestimmte h geben, wie bei der Aminobenzoesäure, bei der ein Löslichkeitsminimum besteht.

2. Oder man sagt: Eine Kaseinlösung ist eine kolloide Lösung, welche Aggregate von Kaseinmolekülen als dispergierte Phase enthält. Die elektrische Ladung dieser dispergierten Phase hängt von der h ab (siehe das Kapitel Elektrophorese); bei einer bestimmten h, dem isoelektrischen Punkt des Kaseins, ist sie = 0; ist h größer, wird sie positiv; wenn kleiner, negativ. Die Oberflächenspannung an der Grenze der Phasen wird durch eine elektrische Ladung vermindert; die Oberflächenspannung hat daher ein Maximum, wenn die Ladung = 0 ist, d. h. im isoelektrischen Punkt. Je größer die Oberflächenspannung, um so größer ist die Neigung zum Ausflocken.

Beide Auffassungen kommen auf dasselbe hinaus. Denn bei der ersten Auffassung ist offen gelassen, ob die in Lösung gehenden Ionen wirkliche Einzel-Ionen sind; es könnten auch Aggregate von mehreren Einzel-Ionen sein; nur muß man den Kasein-Ionen überhaupt eine feinere Dispersität zuschreiben als dem isoelektrischen („unlöslichen") Kasein; denn Verfeinerung der Dispersität ist Annäherung an den Lösungszustand, Vergröberung Annäherung an den geflockten Zustand.

Die zweite Auffassung sagt deshalb dem Verständnis zu, weil sie vermittelst Einführung der „Oberflächenspannung" zu erklären vermag, warum das isoelektrische Kasein ein größeres Flockungsbestreben hat als das geladene Kasein. Die erste Auffassung hat wieder für sich, daß sie den theoretischen Anschluß an die Verhältnisse bei nicht kolloiden Ampholyten gibt. Man verzichtet dann auf die Erklärung der Tatsache, warum isoelektrisches Kasein schwer löslich ist, wie man ja auch auf die

[1]) L. Michaelis u. H. Pechstein, Biochem. Zeitschr. 47, 260. 1912.

Digitized by Google

Erklärung verzichtet hatte, warum isoelektrische Aminosäure verhältnismäßig schwer löslich ist.

Das Kasein ist weder ein völlig reversibles noch ein völlig irreversibles Kolloid. Hat man einmal eine Lösung von Kasein, so sind Zustandsänderungen kleineren Umfanges in sehr verdünnter Lösung ziemlich gut reversibel und eindeutig durch die Natur des Lösungsmittels bestimmt. Ist aber erst einmal eine grobe Flockung namentlich aus stärkerer Lösung entstanden, so ist die Dispergierung nach Beseitigung des Flockungsmittels nur mühsam zu erreichen. Der Versuch muß daher so angeordnet werden, daß es niemals während des Mischens der Substanzen zu einer groben Flockung kommt, wenn diese nicht dem definitiven Zustand entspricht. Die folgende Anordnung erfüllt diese Bedingung.

0,2 g völlig fettfreies Kasein (nach Hammarsten) werden in 5 ccm norm. Natriumazetat (Lösung von 13,6 g kristallisiertem Natriumazetat [$CH_3COONa + 3H_2O$] auf 100 ccm Wasser) und etwas Wasser unter mäßigem Erwärmen gelöst. Es entsteht eine leicht opaleszierende Lösung. Man fülle sie auf 50 ccm mit dest. Wasser auf. Dies ist also eine Kaseinlösung in 0,1 mol. Natriumazetat. Nun fülle man in 9 Reagenzgläser

Nr.	1	2	3	4	5	6	7	8	9
Dest. Wasser ccm	8,38	7,75	8,75	8,5	8	7	5	1	7,4
$\frac{n}{100}$ Essigsäure	0,62	1,25							
$\frac{n}{10}$ Essigsäure			0,25	0,5	1	2	4	8	
$\frac{n}{1}$ Essigsäure									1,6

Zum Schluß fülle man in jedes Röhrchen 1 ccm der obigen Kasein-Natriumazetatlösung; zu jedem Röhrchen wird möglichst schnell, durch Einblasen aus einer Vollpipette zu 1 ccm, das Kasein zugefügt und sofort nach dem Einblasen gut umgeschüttelt. Es entstehen sofort Trübungen, welche folgendes Bild ergeben. Die Zahl der Kreuze deutet die Stärke der Trübungen an:

Nr.	1	2	3	4	5	6	7	8	9
p_h	5,9	5,6	5,3	5,0	4,7	4,4	4,1	3,8	3,5
Trübung:	0	0	+	++	+++	++	+	+	0

Nach 5 Minuten haben einige der Trübungen zu Flockungen ge-

Digitized by Google

führt; die Stärke der Flockung ist durch liegende Kreuze angedeutet:

Nr.	1	2	3	4	5	6	7	8	9
	0	0	+	+++	×××	××	++	+	0

Nr. 5 ist also das Flockungsoptimum.

Man wiederhole den Versuch, indem man in jedem Röhrchen einen Kubikzentimenter des dest. Wassers ersetzt

a) durch m $NaCl$;
b) durch m Natriumrhodanid.
c) durch m $CaCl_2$;
d) durch $\frac{m}{1000}$ $AlCl_3$;
e) durch $\frac{m}{100}$ $ZnCl_2$.

NaCl verschiebt das Optimum nur wenig nach rechts, NaCNS stärker nach rechts; $CaCl_2$ etwa ebenso. $AlCl_3$ verschiebt das Optimum nach links und hemmt gleichzeitig die Flockung; $ZnCl_2$ verschiebt nach links ohne zu hemmen[1]).

20. Übung.

Herstellung von denaturiertem, kolloid gelöstem Serumalbumin und Bestimmung seines Flockungsoptimum[2]).

Genuines Serumalbumin ist ein hydrophiles Kolloid. Seine Dispersität ist selbst im isoelektrischen Punkt noch so groß, daß es nicht in demselben geflockt wird. Durch Erhitzen wird es „denaturiert", d. h. es gewinnt mehr die Charaktere eines Suspensionskolloids. Es flockt im isoelektrischen Punkt wie das Kasein. Sein Flockungsoptimum ist im isoelektrischen Punkt; dieser aber ist verschieden von dem des genuinen Albumin. Wird Albumin bei einer h erhitzt, welche genügend verschieden von seinem isoelektrischen Punkt ist, bei möglichst geringem Elektrolytgehalt, so flockt es bei der Erhitzung nicht, sondern gibt eine milchige, getrübte Suspension. Durch Dialyse gereinigte Albuminlösungen pflegen eine solche h zu haben, daß sie bei genügender Verdünnung durch Erhitzen nicht geflockt werden, denn sie reagieren etwa neutral (p_H etwa 7), während der isoelektrische Punkt des denaturierten Albumin etwa $p_H = 5{,}4$ entspricht. Der Umstand, daß bei nicht gar zu langer Dialyse

[1]) L. Michaelis u. A. v. Szent-Györgyi, Biochem. Zeitschr. **103**, 178. 1920.

[2]) L. Michaelis und P. Rona, Biochem. Zeitschr. **27**, 38. 1910.

Digitized by Google

Spuren von Alkali in dem Serum übrigbleiben, begünstigt die Stabilität des dialysierten Albumin beim Kochen. Diese etwa vorhandenen Alkalispuren stören die weiteren Versuche nicht, da wir h-Regulatoren anwenden. Über die Reversibilität der Zustandsänderung gilt dasselbe wie beim Kasein.

In einer Diffusionshülse von Schleicher u. Schüll (kleines Format) werden 7 ccm Blutserum unter Zugabe von etwas Toluol gegen häufig gewechseltes destilliertes Wasser mindestens 4 Tage lang dialysiert. Man setze gleichzeitig 2—3 solcher Hülsen an. Dann hebe man mit einer Pipette 5 ccm von oben ab, ohne das ausgefallene Globulin aufzurühren, verdünne sie mit 40 ccm destillierten Wassers und stelle das Gefäß in siedendes Wasser. In kurzer Zeit trübt sich die Lösung, ohne zu flocken. Nach 3—4 Minuten ist die Denaturierung vollendet. Die Lösung hält sich lange Zeit gut, ohne zu flocken.

a) Bestimmung der optimal flockenden h bei möglichst geringem und konstantem Gesamtelektrolytgehalt.

Man fülle in eine Reihe von Röhrchen

Nr.	1	2	3	4	5	6	7	8
0,1 norm. Natriumazetat ccm	1	1	1	1	1	1	1	1
0,01 norm. Essigsäure	0,1	0,2	0,4	0,8	1,6	3,2	—	—
0,1 norm. Essigsäure	—	—	—	—	—	—	0,64	1,28
destilliertes Wasser	6,9	6,8	6,6	6,2	5,4	3,8	6,36	5,72
Zusatzflüssigkeit ccm	1	1	1	1	1	1	1	1
p_h	6,7	6,4	6,1	5,8	5,3	5,0	4,7	4,4

„Zusatzflüssigkeit" ist die Lösung, deren besonderer Einfluß studiert werden soll. In diesem ersten Versuch soll kein besonderer Zusatz gemacht werden; die Zusatzflüssigkeit ist also destilliertes Wasser.

Wenn alles eingefüllt ist, wird umgeschüttelt, in jedes Glas 1 ccm der oben beschriebenen Lösung von denaturiertem Albumin eingefüllt und die Röhrchen nochmals umgeschüttelt.

Man beobachte nun Trübungen und Ausflockungen. Der Versuch nimmt viel längere Zeit in Anspruch als der mit Kasein; im Optimumröhrchen bemerkt man in einigen Minuten eine stärkere Trübung; erst nach ½ Stunde pflegen deutliche, sich absetzende Flocken zu entstehen. Man beobachte, in welchem Röhrchen die Trübung und Flockung zuerst eintritt; dies ist gewöhnlich Nr. 5. Die h in diesem Röhrchen berechne man in derselben Weise wie in der vorigen Übung. Auch Nr. 4 flockt allmählich; schon die beiderseitigen Nachbarröhrchen von 4 und 5

Digitized by Google

zeigen höchstens Andeutungen von Flocken. Das Flockungsoptimum ist der isoelektrische Punkt des denaturierten Albumin; in dem Röhrchen links von ihm (bei weniger saurer Reaktion) hat es negative Ladung; rechts, bei saurerer Reaktion positive Ladung.

b) Als „Zusatzflüssigkeit" benutze man in der zweiten, sonst ebensolchen Reihe $\frac{n}{3}$ NaCl. Die Flockung wird stark gehemmt; das Optimum wird nicht verschoben, aber es ist als Optimum nur noch soeben erkennbar, weil es kaum flockt.

c) Noch viel stärker hemmend wirkt $\frac{m}{6}$ Na_2SO_4.

d) Dagegen hemmt nicht mNaJ oder NaCNS. Hier wird gleichzeitig die Flockung nach rechts (in das saurere Gebiet) verschoben.

e) $CuSO_4$ selbst in 0,1 mol. oder sogar 0,01 mol. Lösung verschiebt die Flockung ganz an das linke Ende der Reihe.

f) Ein saurer Farbstoff (gut geeignet Eosin; noch besser Diaminechtrot; 1 promill. Lösungen) verschiebt die Flockung stark nach rechts; die Flocken sind gefärbt. [Bei Eosin 1 : 1000 ist das Optimum Röhrchen Nr. 7.] Bei Anwendung von Eosin erhält man auch im Optimum nur Trübung, mit Diaminechtrot starke Flockungen.

g) ein basischer Farbstoff (zu empfehlen wegen der nicht allzu störenden Farbtiefe der Lösung: Trypoflavin; von Cassella, Frankfurt a. M.; 1 promill. Lösung) verschiebt die Flockung nach links; die Flocken sind gefärbt. Das Optimum ist ganz an das linke Ende der Reihe verschoben; die Flockungen sind kräftig und erstrecken sich, nach einer Stunde, von Röhrchen Nr. 1 bis etwa 3.

Die Flockung des denaturierten Albumin in der Gegend der isoelektrischen h wird also durch Neutralsalze etwas verändert, und zwar wird

1. die Flockung gehemmt, und zwar in steigendem Maße in der Reihe

der Anionen: saure Farbstoffe, CNS, J, Br, Cl, SO_4 (als Alkalisalze); (die ersten Glieder fördern die Fällung sogar).

Die angegebene Anionenreihe gilt nur, wenn die Salze in relativ niederen Konzentrationen (etwa bis 1 mol) vorhanden sind. Bei noch viel höheren Konzentrationen dreht sie sich um: während vorher SO_4 das am stärksten hemmende Ion ist, ist es dann das am stärksten fällende.

Bei den Kationen hemmen nur die dreiwertigen besonders stark; die Schwermetallionen fördern die Fällung.

2. die optimal flockende h verschoben, und zwar

Digitized by Google

bei den Anionen (in Form der Alkalisalze) nach der sauren Seite in der steigenden Reihenfolge:

SO_4 Cl Br J CNS saure Farbstoffe;

bei den Kationen (in Form der Chloride oder Sulfate) nach der weniger sauren Seite in der steigenden Reihenfolge:

Alkalikationen, $Mg^{\cdot\cdot}$, $Zn^{\cdot\cdot}$, $Cu^{\cdot\cdot}$, $Al^{\cdot\cdot\cdot}$, basische Farbstoffe.

Die Wirkung der Salze beruht unter anderem darauf, daß ihre Ionen vom Eiweiß teilweise gebunden werden. Deshalb haben sie einen Einfluß auf den Ladungszustand des Eiweißes, welcher mit dem Einfluß der h konkurriert. Die Bindung der Ionen an das Eiweiß kann man entweder als Salzbildung oder als Ionenadsorption auffassen, je nachdem, auf welchen Standpunkt man sich gemäß der Erläuterung auf Seite 48 stellt. Prinzipiell ist der Unterschied nicht.

21. Übung.

a) Die Alkoholempfindlichkeit der Gelatine bei variierter h[1]).

Nicht alle Eiweißkörper werden in ihrem isoelektrischen Punkt ausgeflockt. Geflockt werden: Kasein, Globuline. Nicht geflockt werden: Albumine, Hämoglobin, Gelatine. Aber die letzteren sind in ihrem isoelektrischen Punkt für eine auf eine andere Weise (ohne Änderung der h) und ohne Beteiligung sonstiger Elektrolyte herbeigeführte Flockung am empfindlichsten. Es soll gezeigt werden, daß Gelatine im isoelektrischen Punkt am empfindlichsten für die Fällung durch Alkohol ist.

Man setzt folgende Reihe an

Nr.	1	2	3	4	5	6	7	8	9
$\frac{n}{10}$ Natriumazetat ccm .	2	2	2	2	2	2	2	2	2
$\frac{n}{10}$ Essigsäure ccm . . .	0,12	0,25	0,5	1	2	4	—	—	—
$\frac{n}{1}$ Essigsäure ccm . . .	—	—	—	—	—	—	0,8	1,6	3,2
dest. Wasser ccm . . .	3,88	3,75	3,5	3	2	0	3,2	2,4	0,8
1 proz. Gelatinelösung ccm	2	2	2	2	2	2	2	2	2

[1]) In Anlehnung an Wo. Pauli, Kolloidchemie der Eiweißkörper. 1. Hälfte. Dresden und Leipzig 1920, S. 32.

Digitized by Google

Nach dem Ummischen gibt man zunächst in Röhrchen 5 soviel 90 proz. Alkohol zu, daß längere Zeit nach dem Vermischen eine soeben erkennbare Trübung entsteht. Es werden dazu gewöhnlich 8 ccm Alkohol erforderlich sein. Die gleiche Alkoholmenge gibt man dann in alle Röhrchen. Die Trübung ist nach 30 Minuten folgendermaßen:

Röhrch. Nr.	1	2	3	4	5	6	7	8	9
Trübung	—	—	—	++	+++	±	—	—	—
p_h . .	6,0	5,6	5,3	5,0	4,7	4,4	4,1	3,8	3,5

Die Alkoholfällung ist also am stärksten in 5. Der isoelektrische Punkt der Gelatine entspricht nun auf Grund von Kataphorese-Versuchen in der Tat $p_h = 4{,}7$.

Nach 24 Stunden sind aus den Trübungen Flockungen geworden. Das Optimum ist nicht mehr so scharf; das linke Ende der Reihe (vom Optimum aus gerechnet) ist durchweg stärker geflockt als das rechte. Die Reihe ist asymmetrisch um das Optimum gruppiert.

b) Die Alkoholempfindlichkeit des genuinen Serumalbumin bei variierter h[1]).

10 ccm Blutserum werden mit 10 ccm gesättigter Ammonsulfatlösung versetzt, nach $^1/_2$ Stunde filtriert und das Filtrat in Schleicher-Schüllschen Dialysierhülsen (siehe S. 77) gegen häufig gewechseltes destilliertes Wasser so lange dialysiert, bis in der Außenflüssigkeit keine wesentliche Menge Sulfat mehr nachweisbar ist. Dies ist einigermaßen schon in 5 Tagen, vollkommener nach 2—3 Wochen zu erreichen. Für unsere Zwecke genügt zur Not die kürzere Dialyse von einigen Tagen. Dem Eiweiß wird während der Dialyse etwas Toluol zugesetzt. So erhalten wir eine vom Globulin befreite Lösung von Serumalbumin. Diese Lösung wird für den Versuch noch mit gleichen Teilen destilliertem Wasser verdünnt. Nun setzt man folgende Reihe an:

Nr.	1	2	3	4	5	6	7	8	9
$\frac{n}{10}$ Natriumazetat ccm	1	1	1	1	1	1	1	1	1
Wasser ccm	7,38	6,75	7,75	7,5	7	6	4	0	6,4

[1]) In Anlehnung an W. Pauli, l. c.

Digitized by Google

	Nr. 1	2	3	4	5	6	7	8	9
$\frac{n}{100}$ Essigsäure ccm .	0,62	1,25							
$\frac{n}{10}$ Essigsäure ccm			0,25	0,5	1	2	4	8	
$\frac{n}{1}$ Essigsäure ccm									1,6

Nun fügt man zu jedem Röhrchen 1 ccm der Albuminlösung und mischt um. Der isoelektrische Punkt des genuinen Serumalbumin entspricht Röhrchen Nr. 5 ($p_h = 4{,}7$). Es tritt aber keine Fällung ein, weil Albumin zu denjenigen Eiweißkörpern gehört, deren Dispersitätsgrad selbst im isoelektrischen Zustand sehr hoch ist. Nun setze man zu jedem Röhrchen 6 ccm etwa 90 proz. Alkohol, nach einiger Zeit entsteht eine Trübung mit folgender Abstufung:

	Nr. 1	2	3	4	5	6	7	8	9
p_h	6,0	5,7	5,4	5,1	4,7	4,4	4,1	3,8	3,5
Trübung nach 10 Min.	0	0	±	±	++	+++	±	0	0

Das Fällungsoptimum liegt also ganz dicht am isoelektrischen Punkt. Die geringfügige Abweichung ist wohl daraus zu erklären, daß in der etwa 30% Alkohol enthaltenden Lösung die Dielektrizitätskonstante der Lösung und folglich auch die Dissoziationskonstanten der Essigsäure, des Wassers und des Eiweiß etwas verändert sind.

22. Übung.

Das Flockungsoptimum eines Gemisches von Tannin und Gelatine[1]).

Zwei gleichzeitig in Lösung befindliche Kolloide, selbst hydrophile Kolloide, können sich gegenseitig ausflocken. Wie groß das gegenseitige Ausflockungsvermögen ist, läßt sich nicht allgemein voraussagen, ebensowenig, wie man allgemein voraussagen kann, ob das Salz, welches sich aus einer Säure und einer Base bildet, leicht oder schwer löslich ist (man denke an die zwei Beispiele: Essigsäure + NaOH: keine Fällung des Salzes; Phosphorsäure + Barythydrat: Fällung des Salzes). Aber man kann voraussagen, von welchen Bedingungen das Flockungsbestreben eines gegebenen Kolloidgemischs beeinflußt wird.

[1]) L. Michaelis und H. Davidsohn, Biochem. Zeitschr. **54**, 323. 1913.

Digitized by Google

Handelt es sich um zwei amphotere Kolloide mit verschiedenem isoelektrischen Punkt, so wird die Flockung bei einer solchen h am besten, bei der das eine Kolloid noch genügend positiv, das andere schon genügend negativ geladen ist. Die Schärfe des Flockungsoptimums hängt von der Affinität der beiden Kolloide ab. Eiweiß + spezifisches Eiweißpräzipitin flockt fast ebensogut bei leicht saurer, neutraler oder leicht alkalischer Reaktion; die Flockung hängt nur wenig von der h ab (wie z. B. bei $Ba[OH]_2 + H_2SO_4$), Tannin + Gelatine dagegen hat ein einigermaßen scharfes Flockungsoptimum in einem engen Bereich von h, wie z. B. ein Gemisch von $ZnCl_2 + NH_4Cl$; ändert man in einem solchen Gemisch die h durch Zugabe von HCl und NaOH, so entsteht nur in einem engen Bereich leicht alkalischer Reaktion eine Fällung von $Zn(OH)_2$.

Man setze folgende Reihe an:

Gläschen Nr.	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
0,5 proz. Gelatinelösung ccm	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
$\frac{1}{1}$ nNaOH ccm	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
Destilliertes Wasser ccm .	6,5	6,4	6,3	6,1	5,7	4,9	3,3	0,1	6,2	4,9
$\frac{1}{1}$ norm. Essigsäure ccm .	1,0	1,1	1,2	1,4	1,8	2,6	4,2	7,4	0	0
10fach norm. Essigsäure ccm	0	0	0	0	0	0	0	0	1,3	2,6

Jetzt werden alle Röhrchen umgeschüttelt und von einer 0,1 proz. Tanninlösung je 1 ccm unter sofortigem nochmaligem Umschütteln zugegeben.

Das Resultat innerhalb der ersten Minute nach Ansetzen des Versuchs ist folgendes:

Nr.	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
$p_h <$	6	5,8	5,4	5,1	4,8	4,5	4,3	4,0	3,7	3,4
Trübung nach 1 Minute	0	+	+	++	++	+++	+++	+	±	0

Die Kreuze geben die Stärke der Trübung an. Aus der Trübung wird bald eine Flockung. Je nach dem Mengenverhältnis von Gelatine zu Tannin ist das Optimum mehr oder weniger scharf und in seiner Lage etwas verschieden. Die oben angegebenen Mengenverhältnisse sind wohl die günstigsten; hier ist ein recht scharfes Optimum erkennbar.

Die Berechnung der h geschieht auf folgende Weise. Man berechne aus den angewendeten Mengen Essigsäure und Natron-

Digitized by Google

lauge den molaren Gehalt der Lösung an (überschüssiger) Essigsäure und Natriumazetat. Z. B. in Röhrchen 5 ist 1 ccm norm. NaOH und 1,8 ccm n-Essigsäure, daher: Essigsäure : Natriumazetat = 0,8 : 1.

Nun ist $h = 2 \cdot 10^{-5} \cdot \frac{\text{Essigsäure}}{\text{Natriumazetat}}$, also für Röhrchen Nr. 5 $h = 2 \cdot 10^{-5} \cdot \frac{0{,}8}{1} = 1{,}6 \cdot 10^{-5}$. In Röhrchen Nr. 1 ist nur Natriumazetat. h ist hier kleiner als in Nr. 2 ($< 2 \cdot 10^{-6}$) und nicht weit entfernt von neutraler Reaktion (10^{-7}).

Man erkennt aus diesem Versuch folgendes. Wenn man beobachtet, daß eine kolloide Lösung bei einer bestimmten h ein Flockungsoptimum hat, so folgt daraus nicht notwendigerweise, daß es sich um die Lösung eines Kolloids handelt und daß dieses Flockungsoptimum der isoelektrische Punkt desselben sei, sondern es kann auch ein Gemisch zweier Kolloide vorliegen, und das Flockungsoptimum stellt die günstigste h für die gegenseitige Flockung dieser beiden Kolloide dar.

23. Übung.

Das Fällungsoptimum von Lezithin bei variierter h[1].

Etwa 0,5 g Lezithin „Merck" werden mit 50 ccm destillierten Wassers so lange im Schüttelapparat geschüttelt (etwa 1 Stunde), bis alles Lezithin zu einer gleichförmigen, trüben Emulsion verteilt ist.

Man stelle nach den Vorschriften der analytischen Chemie eine normale Lösung von Milchsäure her. Die Lösung muß vor ihrer endgültigen Titerstellung $^1/_4$ Stunde gekocht werden, um das stets vorhandene Milchsäureanhydrid in Milchsäure zu verwandeln. Die Titrierung geschieht gegen nNaOH mit Phenolphthalein.

Nun stellt man eine $^1/_{40}$ molare Natriumlaktatlösung folgendermaßen her. 5 ccm nNaOH werden mit einem Tropfen Phenolphthalein versetzt und so viel von der Milchsäurelösung hinzugeben, daß soeben Entfärbung eintritt, und die Lösung auf 200 ccm mit destilliertem Wasser aufgefüllt.

Aus einer zweiten Portion der titrierten Milchsäure stelle man eine 0,1 molare, aus einer dritten eine 0,01 molare Milchsäure her.

---

[1] Feinschmidt, Biochem. Zeitschr. **38**, 244. 1912.

Digitized by Google

Nun setze man folgende Reihe an:

Röhrchen Nr.	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
$\frac{1}{40}$ mol. Natriumlaktat ccm	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
0,01 mol. Milchsäure ccm	0,49	0,98	1,95	3,9	7,8	—	—	—	—	—	—	—
0,1 mol. Milchsäure ccm	—	—	—	—	—	1,56	3,12	6,28	—	—	—	—
1 mol. Milchsäure ccm	—	—	—	—	—	—	—	—	1,25	2,5	5	10
dest. Wasser ccm	9,51	9,02	8,05	6,1	2,2	7,44	6,88	3,75	8,75	7,5	5,0	0
Lezithinemulsion	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
p_h	4,9	4,6	4,7	3,9	3,6	3,3	2,9	2,6	2,3	2	etwa 1,7	etwa 1,4

Resultat: (+ Trübung, × Flockung),

nach 1 Minute	—	—	—	—	—	—	+	—	—	—	—	—
„ 10 Minuten	—	—	—	—	—	+	×	—	—	—	—	—
„ 30 „	—	—	—	—	—	+	×××	—	—	—	—	—
„ 60 „	—	—	—	—	—	×	×××	—	—	—	—	—

h wird angenähert berechnet nach

$$h = 1{,}5 \cdot 10^{-4} \frac{(\text{Milchsäure})}{(\text{Natriumlaktat})}$$

also für das Optimumröhrchen Nr. 7 h etwa $1{,}2 \cdot 10^{-3}$, $p_h = 2{,}9$.

Für verschiedene Lezithinpräparate findet man andere Optima; häufig liegt das Optimum ganz am sauren Ende der Reihe; bei manchen (z. B. alkoholischer Herzextrakt) noch rechts außerhalb der hier angegebenen Reihe.

24. Übung.

Das Fällungsoptimum von Lezithin-Eiweißverbindung.

Genau wie der vorige Versuch, nur verwendet man statt der Lezithinsuspension folgende Mischung: 20 ccm der vorigen Lezithinsuspension + 1 ccm dialysiertes Blutserum. Hiervon wird, wie vorher, in jedes Röhrchen 1 ccm zugefügt.

Resultat:

	1	2	3	4	5
Nach 1 Minute	×××	×××	×××	++	++

6	7	8	9	10	11	12
++	0	0	0	0	0	0

Digitized by Google

0 bedeutet: Keine Verstärkung der ursprünglichen Lezithintrübung.

Die Fällung wird stark nach dem weniger saurem Gebiet verschoben. Sie wird gleichzeitig viel massiger. Im übrigen siehe die Bemerkungen zu Übung Nr. 22.

Durch eine ebensolche Reihe, bei welcher man 20fach mit Wasser anstatt mit Lezithinaufschwemmung verdünntes Serum benutzt, überzeugt man sich, daß das Serum allein nicht die Ursache der mächtigen Fällungen der vorigen Versuchsreihe ist.

Als „Lezithin" kann man auch alkoholische Herzextrakte, Wassermann-Extrakte nehmen.

25. Übung.

Die Säureagglutination der Typhusbazillen[1].

Zwei schräge Agarröhrchen werden mit Typhusbazillen beimpft und das Impfmaterial mit einem Tropfen Kondenswasser oder sterilem Wasser über die ganze Oberfläche des Agar verbreitet. Nach 24stündigem Wachstum im Brutschrank wird der gesamte Bakterienrasen mit 5 ccm destillierten Wassers (nicht Kochsalzlösung) abgeschwemmt, nochmals mit 5 ccm Wasser nachgewaschen und auf 20—30 ccm aufgefüllt. Es soll eine recht deutlich getrübte Suspension entstehen. Diese wird in eine Bürette mit Glashahn, zu 20 ccm, in Kubikzentimeter geteilt, eingefüllt. Wer nicht mit lebenden pathogenen Bakterien arbeiten will, mag die Suspension mit $^1/_5$ Volumen 5 proz. Phenollösung erst einige Stunden stehen lassen.

Nun stelle man folgende Mischungen her.

Lösung	Nr. 1	2	3	4	5	6
n NaOH ccm	5	5	5	5	5	5
n-Essigsäure ccm	7,5	10	15	25	45	85
Wasser ccm	87,5	85	80	70	50	10

Diese Mischungen sind längere Zeit haltbar.

Ihre h beträgt rund:

h	1	2	4	8	16	32×10^{-5}
p_h	5,0	4,7	4,4	4,1	3,8	3,5

Man fülle in 6 Reagenzgläschen je 1 ccm der 6 Lösungen ein, dann in jedes Röhrchen 3 ccm der Bazillenaufschwemmung.

[1] L. Michaelis, Deutsche med. Wochenschr. 1912, Nr. 21.

Digitized by Google

Das Reagenzglasgestell kommt in den Brutschrank. Sobald die erste Spur einer Flockung sichtbar wird (10 Min. bis 1 Std.), wird das Gestell ins Zimmer gestellt. Hier wird die Agglutination schnell deutlicher. Das Optimum der Agglutination ist Röhrchen Nr. 3 ($h = 4 \cdot 10^{-5}$). Je nach der Agglutinabilität des Bakterienstammes ist die Flockung feiner oder massiger, beschränkt sich ganz auf Röhrchen 3 oder erstreckt sich nach einer oder beiden Seiten auf das Nachbarröhrchen. Bei der Beobachtung darf man nicht aufschütteln, wie man das bei der Serumagglutination tut. Sind die Bakterien aufgeschüttelt worden, so kann man die Beobachtung ungestört von neuem mit gleichem Resultat anstellen, wenn man die Röhrchen nunmehr in Ruhe läßt.

Die Agglutinabilität (nicht aber die Lage des Optimums in der Reihe!) hängt vom Typhusstamm, von der Dichte der Aufschwemmung und vom Nährboden ab. Sollte sie nicht anschaulich genug ausfallen, so arbeite man mit Paratyphus-B-Bazillen. Diese geben immer eine gute Säureagglutination, und zwar mit dem Optimum in Röhrchen 5 (bis 6).

VI. Oberflächenspannung.

Die Oberfläche einer Flüssigkeit hat das Bestreben sich auf ein Minimum zu kontrahieren. Man schreibt deshalb der Oberfläche eine Spannung zu. Diese bewirkt, daß die aus einer kapillaren Öffnung ausfließende Flüssigkeit in einzelnen Tropfen abfließt; der Tropfen reißt erst ab, wenn sein Gewicht die Oberflächenspannung überwindet. Die Oberflächenspannung bewirkt ferner, daß die Flüssigkeit in einer Kapillare aufsteigt, wenn sie die Wand derselben benetzt. Der Benetzung wäre an sich Genüge getan, wenn eine äußerst dünne Flüssigkeitshaut an den Wänden der Kapillare emporkröche; da aber dann die Oberfläche der Flüssigkeit sehr groß würde, verkleinert sich die Oberfläche dadurch, daß das Wasser emporsteigt.

Gelöste Stoffe verändern die Oberflächenspannung des Wassers; es gibt nur wenige Stoffe, die die Oberflächenspannung des Wassers merklich erhöhen, aber viele, die sie stark vermindern. Diese Stoffe nennt man kapillaraktiv oder oberflächenaktiv. Dazu gehören vor allem kohlenstoffreiche Verbindungen; sie sind um so oberflächenaktiver, je länger die C-Kette ist, je geringer die Zahl der entschieden elektropositiven und besonders elektronegativen Gruppen (OH, COOH) ist. Die oberflächenaktiven Stoffe zeichnen sich durch hohe Adsorbierbarkeit und durch hohe biologische Wirkung (Hemmung der O_2-Atmung, Narkose u. a.) aus.

Digitized by Google

26. Übung.

Die Steighöhenmethode.

Eine benetzende Flüssigkeit steigt in eine Kapillare zu einer Höhe auf, welche bestimmt wird durch die Formel $h = \frac{2\sigma}{rD}$ (h Steighöhe, σ Oberflächenspannung, r Radius der Kapillare, D spezifisches Gewicht der Flüssigkeit). Aus der Steighöhe h kann man daher σ berechnen, wenn r und D bekannt ist. Die Steighöhe ist die Niveaudifferenz der äußeren Flüssigkeit und der Flüssigkeit in der Kapillare. Nicht ohne besondere Vorrichtungen zu bestimmen ist das Niveau der äußeren Flüssigkeit. Man kann das auf folgende Weise umgehen. Haben wir zwei Kapillaren mit den Radien r_1 und r_2, so ist

$$h_1 = \frac{2\sigma}{r_1 D}, \text{ und } h_2 = \frac{2\sigma}{r_2 D}, \text{ also}$$

$$h_1 - h_2 = \frac{2\sigma}{D} \cdot \frac{1}{(r_1 - r_2)}$$

Die Höhendifferenz $h_1 - h_2$ kann man ohne wesentlichen Fehler gleichsetzen der Höhendifferenz der beiden Menisken. Arbeitet man mit zwei Kapillaren von verschiedenem Lumen, so ist also

$$h_1 - h_2 = \frac{K}{D} \cdot \sigma, \text{ oder } \sigma = \frac{(h_1 - h_2)}{K} \cdot D$$

wo K eine Konstante ist, deren Bedeutung sich aus der vorigen Formel ergibt.

Diese Konstante kann für ein Kapillarenpaar dadurch geeicht werden, daß man die Steighöhendifferenz von Wasser bestimmt; wollen wir nur immer relative Bestimmungen von σ, bezogen auf die des Wassers = 1 (wo auch D = 1 ist) machen, so setzen wir also $\sigma_{\text{Wasser}} = 1$, und daher ist $K = (h_1 - h_2)_{\text{für Wasser}}$. Die relative Oberflächenspannung einer Flüssigkeit ist daher gleich der Steighöhendifferenz in einem Kapillarenpaar, dividiert durch die Steighöhendifferenz in diesem Kapillarenpaar bei reinem Wasser der gleichen Temperatur, multipliziert mit dem spezifischen Gewicht der Flüssigkeit.

Man benutzt zwei starkwandige sog. Thermometerkapillaren, mit eingeätzter Millimeterteilung (Fig. 5). Die Teilungsstriche sollen, zur Vermeidung parallaktischer Ablesung, mindestens die Hälfte der Peripherie des Rohres umfassen. Die äußere Peripherie der beiden Rohre ist gleich, damit man sie bequem aneinandergepreßt in ein Stativ einklemmen kann. Der Durchmesser des

Digitized by Google

Lumens ist zweckmäßig bei der einen 2,5 mm, bei der anderen 0,35—0,4 mm. Die Kapillaren werden in Bichromat-Schwefelsäure gereinigt, wie in Fig. 5 befestigt und in die Flüssigkeit getaucht. Man überzeuge sich, daß das Niveau in beiden Kapillaren frei spielt und oberhalb des Meniskus im Rohr kein Flüssigkeitstropfen hängen bleibt, und daß die Niveaueinstellung bei Bewegungen des Meniskus von oben und von unten her gleich ist.

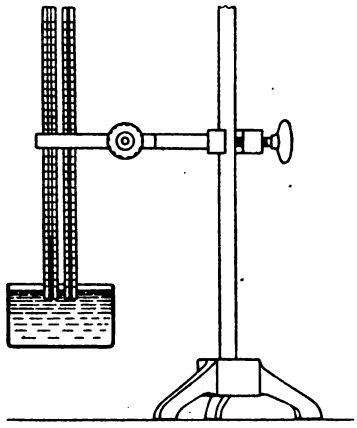


Fig. 5. Doppelkapillare.

So gab z. B. bei 18° Wasser eine Höhendifferenz von 36,5 mm, gesättigte Lösung von (Gärungs-) Amylalkohol 13,4 mm; also, da D = 1 gesetzt werden kann, ist die relative Oberflächenspannung der Lösung $= \frac{13,4}{36,5} = 0,367$.

27. Übung.

Bestimmung der relativen Oberflächenspannung mit der Tropfenmethode (Stalagmometer nach J. Traube).

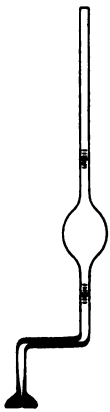


Fig. 6. Stalagmometer nach J. Traube. 1/5 nat. Größe.

Das Stalagmometer besteht aus einem Glasrohr nebenstehender Form. Oberhalb und unterhalb der birnförmigen Erweiterung trägt es eine Anfangs- und Schlußmarke. Die Ausflußöffnung ist eine breite, horizontal geschliffene Fläche, welche von einer feiner Kapillare durchbohrt ist.

1. Eichung des Stalagmometers. Das Stalagmometer wird lotrecht an einem Stativ befestigt, ein Gefäß zum Auffangen der abtropfenden Flüssigkeit daruntergestellt. Man saugt in das Rohr Wasser bis über die obere Marke und läßt es abtropfen. Von dem Augenblick, wo der Wasserstand die obere Marke erreicht hat, beginnt man die Tropfen zu zählen, bis die untere Marke erreicht ist. Die geeignetsten Stalagmometer sind solche zu etwa 80 Tropfen. Man wiederhole die Zählung mindestens 3 mal; die Unterschiede der einzelnen Zählung dürfen 1 Tropfen nicht überschreiten.

Digitized by Google

Bei Stalagmometern mit kleiner Tropfenzahl (z. B. 18 Tropfen) ist zur Abmessung von Bruchteilen eines Tropfen oberhalb der beiden Marken eine Graduierung angebracht, deren Ausdehnung nach oben und nach unten im ganzen je $^1/_2$ Tropfen entspricht. Besteht die Graduierung aus je 5 Strichen nach oben und nach unten, so bedeutet jeder Strich 0,1 Tropfen. Da das Passieren der Wassersäule durch die Hauptmarke nicht gerade mit dem Abfallen eines Tropfens zusammenzufallen braucht, beginnt man genau mit dem Abfallen eines Tropfens zu zählen und beobachtet dabei den Stand des Meniskus. Das macht man sowohl beim Passieren der oberen wie der unteren Hauptmarke. Für den Anfang der Zählung muß man oberhalb der Hauptmarke liegende Tropfenbruchteile abziehen, unterhalb derselben liegende addieren. Für den Schluß, für das Passieren der unteren Marke, muß man oberhalb liegende Bruchteile addieren, unterhalb liegende subtrahieren. Z. B.:

gezählt 19 Tropfen. Oben: 3 Striche oberhalb
unten: 4 „ „
Resultat: $19 - 0{,}3 + 0{,}4 = 19{,}1$ Tropfen.

2. Um die zu untersuchende Lösung zu messen, sauge man sie (wie bei der Steighöhenmethode) zunächst einige Male durch die Kapillare, dann mißt man die Tropfenzahl wie beim Wasser. Ist Z_w die Ausflußzahl für Wasser, Z die der unbekannten Lösung, D das spezifische Gewicht der letzteren, so ist die relative Oberflächenspannung σ

$$\sigma = \frac{Z}{Z_w} \cdot D$$

Zur Veranschaulichung der Traubeschen Reihen, d. h. der rapide zunehmenden Oberflächenaktivität mit wachsender Kohlenstoffkette in homologen Reihen, bestimme man die relative Oberflächenspannung bei folgenden Lösungen:

	relative Oberflächenspannung
A. a) 1 normale Lösung von Methylalkohol (3,2 Gewichtsproz. = 3,9 Volumproz.)	0,92
b) „ „ Lösung von Methylalkohol (4,6 Gewichtsproz. = 5,75 Volumproz.)	0,76
B. a) 0,125 normaler Äthylalkohol (0,57 Gewichtsproz. = 0,71 Volumproz.)	0,95
b) 0,125 normaler (Iso-)Amylalkohol (1,1 Gewichtsproz. = 1,36 Volumproz.)	0,54

Digitized by Google

	relative Oberflächenspannung
C. gesättigte Lösung von Heptyl- oder Oktylalkohol (enthält analytisch kaum nachweisbare Mengen des Alkohols) . . . . . um	0,5

Man sieht aus dem Versuch A, daß bei gleichem molaren Gehalt der höhere Alkohol der aktivere ist. Dasselbe sieht man aus B; man erkennt hier, daß Amylalkohol nicht nur auf molare, sondern absolute Konzentration bezogen viel aktiver ist als Äthyl- oder Methylalkohol, und aus C sieht man, daß die sonst kaum nachweisbaren Spuren Oktylalkohol selbst den Amylalkohol noch weit an Oberflächenaktivität übertreffen.

Man stelle eine gesättigte Lösung von Dezylalkohol her. Man schüttele nicht zu heftig, sonst erhält man eine opaleszierende, kolloidale Lösung. Die echte Lösung, nach dem Filtrieren ganz klar, zeigt keine wesentliche Oberflächenaktivität: Die Löslichkeit hat stärker abgenommen, als die Oberflächenaktivität zugenommen hat. Nach heftigem Schütteln erhält man beim Filtrieren eine opaleszierende kolloide Lösung, welche deutlich oberflächenaktiv ist.

28. Übung.

Die steigende biologische Wirkung oberflächenaktiver Stoffe in homologen Reihen.

In dieser Übung soll diejenige Grenzkonzentration verschiedener einwertiger Alkohole ermittelt werden, welche bei Zimmertemperatur Bacterium coli in etwa 15 Minuten abtötet. In eine Reihe von Reagenzgläsern fülle man ein:

Methylalkohol . . .	ccm:	9,6	6,4	4,3	2,8	
Wasser	ccm:	0,4	3,6	5,7	7,2	
ferner in eine 2. Reihe						
Äthylalkohol . . .	ccm:	7,5	5,0	3,3	2,2	
Wasser	ccm:	2,5	5,0	6,7	7,8	
ferner						
n-Propylalkohol . .	ccm:	3,6	2,4	1,6	1,1	0,7
Wasser	ccm:	6,4	7,6	8,4	8,9	9,3
ferner						
gesättigte wässerige Amylalkohollösung (d. h. etwa 2,8 proz.)	ccm:	10,0	6,7	4,4	3,0	
Wasser	ccm:	0	3,3	5,6	7,0	

Digitized by Google

ferner

gesättigte wässerige Lösung von Heptylalkohol	ccm:	10,0	6,7	4,4	3.0
Wasser	ccm:	0	3,3	5,6	7,0

In jedes dieser Röhrchen verreibt man 2 Platinösen einer auf Agar gewachsenen Kultur von Bacterium coli. Die Bakterien werden mit der Platinöse zunächst an der trockenen Wand des Reagenzglases verrieben und dann in die Flüssigkeit hineingespült. Bei jedem Röhrchen wird der Zeitpunkt des Einimpfens notiert. 15 Minuten nach der Einimpfung wird aus jedem Röhrchen eine Platinöse entnommen und auf eine Agarplatte geimpft. Man kann eine Platte für etwa 8 Impfungen benutzen, indem man sie in Felder einteilt. Nach der Impfung werden die Platten zunächst 1 Stunde unverschlossen, die geimpfte Seite nach unten, in den Brutschrank gestellt, um die Spuren aufgebrachten Alkohols zum Verdunsten zu bringen. Dann wird die Platte mit dem Deckel verschlossen. Nach 24stündigem Wachsen im Brutschrank bei 37° wird beobachtet, welche Impfungen angegangen und welche steril geblieben sind. Das Resultat pflegt zu sein: die niederste eben noch abtötende Konzentration ist

für Methylalkohol	64	Volumproz.	
„ Äthylalkohol	50	„	
„ Propylalkohol	20	„	
„ Amylalkohol	2,8	„	(d. h. die gesättigte Lösung).

Heptylalkohol tötet unter diesen Bedingungen nicht mehr ab, trotz seiner hohen Kapillaraktivität, da er nicht mehr genügend löslich ist.

Geht man in der homologen Reihe noch höher, zum Dezylalkohol, so ist die Kapillaraktivität auch nicht mehr stalagmometrisch nachzuweisen, weil die Löslichkeit zu gering geworden ist (siehe vorige Übung). Ein viel empfindlicheres biologisches Objekt als Bakterien, ja sogar als das Stalagmometer sind z. B. Paramäcien. Diese findet man stets in Wasser, welche einige Tage mit Heu gestanden hat. Bringt man zu einem paramäcienhaltigen Wassertropfen einen Tropfen gesättigte Dezylalkohollösung, so werden die Paramäcien augenblicklich unter stärkster Entstellung ihrer Struktur getötet.

Digitized by Google

29. Übung.

Relative quantitative Analyse eines kapillaraktiven Stoffes.

Gegeben sei eine beliebige, nicht gesättigte Lösung von Tributyrin (Tributtersäureglyzerinester). Es soll die relative Konzentration derselben bestimmt werden, indem die Sättigungskonzentration bei gleicher Temperatur = 1 gesetzt wird.

Einige Tropfen Tributyrin werden mit 100 ccm dest. Wassers[1]) in einer verschlossenen Flasche 10 Minuten heftig geschüttelt und dann filtriert. Die erste und letzte Portion des Filtrats wird getrennt aufgefangen und verworfen. Von dieser Lösung stellt man folgende Verdünnungen her:

	Nr. 1	2	3	4	5	6	7
gesättigte Tributyrinlösung	10 ccm	8	6	4	3	1	0
dest. Wasser	0 „	2	4	6	8	9	10

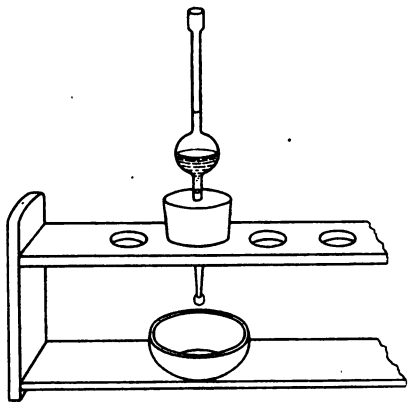


Fig. 7. Tropfpipette.

Von jeder dieser Lösungen bestimmt man die Tropfenzahl. Es ist aber nicht unbedingt erforderlich, hierzu das langsam tropfende Traubesche Stalagmometer zu nehmen, sondern man kann sich einer schneller tropfenden Tropfpipette[2]) bedienen (Fig. 7). Sie hat einen Fassungsraum von etwa 3 ccm und endet in eine nach unten sich leicht verjüngende Spitze mit nicht zu schwacher Glaswandung. Zur gelegentlichen Reinigung benutzt man Schwefelsäure-Bichromatgemisch. Der sich bildende Tropfen kriecht von der Spitze die Wand etwas in die Höhe, bevor er abreißt. Dies soll ganz gleichmäßig nach allen Seiten erfolgen. Kriecht der Tropfen etwas einseitig in die Höhe, so kann man das meist dadurch korrigieren, daß man die trockene Spitze zwischen dem

[1]) Es empfiehlt sich, statt dest. Wassers gleich die in der nächsten Übung beschriebene Phosphatmischung zu nehmen, um die folgende Übung gleich vorzubereiten.

[2]) P. Rona u. L. Michaelis, Biochem. Zeitschr. **31**, 345. 1911.

Digitized by Google

trockenen Daumen und Zeigefinger unter Druck hin und her rollt. Am besten eignen sich Tropfpipetten mit 80—90 Tropfen bei reinem Wasser. In der Sekunde soll etwa $1-1^1/_2$ Tropfen ausfließen. Da bei dieser Tropfgeschwindigkeit jeder Tropfen infolge seiner kinetischen Energie etwas zu früh abreißt, ist die Oberflächenspannung nicht wie bei einem richtigen Stalagmometer der Tropfenzahl genau umgekehrt proportional. Z. B. war für eine (nicht gesättigte) Lösung von Heptylalkohol die Tropfenzahl, relativ zu der des Wassers, mit einem Traubeschen Stalagmometer gemessen $= \frac{24{,}6}{18{,}5} = 1{,}32$; mit der schnell tropfenden Pipette gemessen $= \frac{142}{101} = 1{,}41$. Trotzdem entspricht natürlich jeder Tropfenzahl eine ganz bestimmte Konzentration an Tributyrin.

Man bestimmt nun für obige 7 Lösungen durch mehrfach wiederholte Parallelversuche die Tropfenzahl. In den Parallelversuchen soll diese bis auf 1 Tropfen übereinstimmen. Nur bei den höchsten Tributyrinkonzentrationen ist die Reproduzierbarkeit etwas schlechter.

Es fanden sich z. B. folgende Werte:

	Nr. 1	2	3	4	5	6	7
Tropfenzahl (Mittelwerte)	149,7	143,0	136	126,3	112,6	104	82,7

Man trägt nun auf Millimeterpapier die Konzentrationen auf die Abszisse und die Tropfenzahl auf die Ordinate und erhält so eine Eichkurve (Fig. 8).

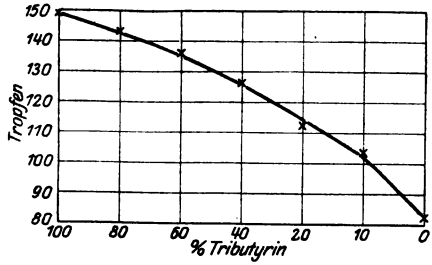


Fig. 8. Eichkurve für Tributyrin.

Unsere oben gestellte Aufgabe, die Konzentration einer beliebigen Tributyrinlösung zu bestimmen, lösen wir dadurch, daß wir mit derselben Pipette ihre Tropfenzahl messen und in dem Diagramm ihre Konzentration ablesen.

Digitized by Google

30. Übung.

Nachweis des fettspaltenden Ferments im Blutserum[1].

Die Übung schließt unmittelbar an die vorige an; die gewonnene Eichungskurve kann sofort verwendet werden. Nur stelle man die gesättigte Tributyrinlösung nicht in reinem Wasser her, sondern in einem Phosphat-Regulator, um die Wasserstoffzahl herzustellen und festzuhalten, welche für die Wirkung des Ferments am günstigsten ist. Eine solche Lösung wird folgendermaßen hergestellt. Man geht von einer 1fach molaren Phosphorsäurelösung aus. Eine 1fach molare (3fach normale) Phosphorsäure kann von Kahlbaum bezogen werden. Ihr Titer wird auf folgende Weise kontrolliert. 10 ccm der Phosphorsäure werden mit 100 ccm dest. Wasser und mit 1 norm. NaOH titriert mit Methylorange als Indikator. Die Titration ist beendet, wenn jeder rötliche Ton verschwunden ist und die Farbe genau so geworden ist, wie in einer stark alkalischen Kontrollprobe. Man stelle ein Gefäß mit etwa ebensoviel Wasser daneben, versetze es mit einigen Tropfen starker Lauge und ebensoviel Indikator wie in der Phosphorsäurelösung, d. h. 2—3 Tropfen einer 0,02 proz. alkoholischen Lösung von Methylorange. Derjenige Tropfen Lauge, welcher den letzten Schimmer von Orange zum Verschwinden bringt und das reine, blasse Gelb erzeugt, wird nicht mehr mitgerechnet. Auf diese Weise müssen die 10 ccm Phosphorsäure 10 ccm n Lauge verbrauchen.

Wendet man Phenolphthalein als Indikator an und titriert bis einschließlich zu demjenigen Tropfen, welcher eben eine ganz unzweifelhafte Rosafärbung hervorruft, so müssen die 10 ccm Phosphorsäure 20 ccm 1 norm. Lauge verbrauchen.

Nunmehr vermischt man

1. 10 ccm von dieser 1 mol. Phosphorsäure + 10 ccm nNaOH + 10 ccm dest. Wasser. Diese Mischung ist $^1/_3$ mol. primäres Natriumphosphat,
2. 10 ccm 1 mol. Phosphorsäure + 20 ccm nNaOH: das ist $^1/_3$ mol. sekundäres Natriumphosphat.

Jetzt vermischt man 100 ccm Wasser mit 1 ccm $^1/_3$ mol. primärem Natriumphosphat und 7 ccm $^1/_3$ mol. sekundärem Natriumphosphat. Dann wird die Lösung mit etwa 20 Tropfen Tributyrin versetzt, 10 Minuten geschüttelt, filtriert, die ersten Kubikzentimeter des Filtrats verworfen und der Rest aufgefangen. 50 ccm dieser

[1] P. Rona u. L. Michaelis, l. c.

Digitized by Google

Lösung werden mit 1 ccm menschlichen Blutserums versetzt. Das Serum darf 2—3 Tage alt, aber nicht „inaktiviert" (erwärmt) worden sein. Unmittelbar nach dem Vermischen bestimme man die Tropfenzahl nach der S. 66 angegebenen Methode, und dann etwa alle 5—10 Minuten wieder. Die erhaltenen Werte trage man in ein Koordinatensystem ein, die Zeiten (vom Beginn des Serumzusatzes gezählt) als Abszisse, die Tropfenzahlen als Ordinate. Die Tropfenzahlen kann man auch auf Grund der Eichung (Übung 29) in Tributyrin-Konzentrationen, bezogen auf die volle Sättigung als Einheit, umrechnen, und eine zweite graphische Darstellung wählen: Zeit als Abszisse, Tributyrin als Ordinate. Beispielsweise fand sich:

Zeit in Minuten	0	1	13	23	49	60
Tropfenzahl	147	147	138	134	125	123
Wasserwert			83			

Eine (relative) quantitative Bestimmung des fettspaltenden Ferments wird aus dieser Methode auf folgendem Wege erhalten. Man wiederhole diesen Versuch mit einer Reihe normaler menschlicher Blutsera und betrachte nun die einzelnen Diagramme. Notwendig sind nur die Zeit-Tropfenzahl-Diagramme; die Zeit-Konzentrationsdiagramme sind entbehrlich. In den verschiedenen Diagrammen vergleiche nun die Zeiten gleicher Tropfenzahl. Beispielsweise finde man: Tropfenzahl an einer Kontrolle, welcher statt Serum die gleiche Menge Wasser zugesetzt wurde: 140. Das ist der wahre Anfangswert. In den ersten Messungen mit Serum wird man gleich etwas weniger finden. Nunmehr liest man an den Diagrammen die Zeit ab, nach welcher die Tropfenzahl 120 betrug. Dies sei bei 5 verschiedenen Normalserumproben 10; 11; 12; 9; 9 Minuten, im Mittel 10,0 Minuten. Ferner liest man ab, in welcher Zeit die Tropfenzahl 110 erreicht wurde. Dies sei 18; 19; 20; 16; 17 Minuten, im Mittel 18,0 Minuten.

Diesen Zahlen können als bleibender Maßstab für künftige Versuche benutzt werden, sofern die Zimmertemperatur innerhalb 2—3° die gleiche ist. Findet man nun an einem pathologischen Serum z. B. von einer schweren Phthisis pulmonum

120 Tropfen in 30,0 Minuten
110 „ „ 58,0 „

so würde aus der ersten dieser beiden Zahlen folgen, daß der Umsatz in 30 Minuten so weit ist, wie bei normalem Serum in 10 Minuten; aus der zweiten Zahl folgt, daß der Umsatz bei

Digitized by Google

dem Krankenserum in 55 Minuten so weit ist, wie normalerweise in 18 Minuten. Die Fermentmengen verhalten sich umgekehrt wie die Zeiten gleichen Umsatzes; die erste Zahl gibt als eine Fermentmenge von $\frac{10}{30}$, die zweite von $\frac{18}{55}$ des normalen, als Mittel von 0,33 und 0,31 also 0.32, bezogen auf normalen Fermentgehalt = 1.

31. Übung.

Nachweis des fettspaltenden Ferments im Magen- und Darmsaft[1]).

Das Prinzip ist dasselbe wie bei der Blutlipase. Nur bedarf man einer andern h als Wirkungsoptimum.

Man versetze 90 ccm Wasser mit 10 ccm der $^1/_3$ mol. primären Natriumphosphats, ohne sekundäres Natriumphosphat; die Lösung wird mit Tributyrin gesättigt, filtriert. 30 ccm dieser Lösung werden mit 1 ccm des sorgfältig filtrierten Magensaftes versetzt und weiter wie beim Blutserum verfahren.

Für Pankreaslipase benutze man eine Lösung von 90 ccm Wasser + 10 ccm $^1/_3$ mol. sekundären Phosphats ohne primäres. In dieser Lösung ist nur Pankreas- oder Darmlipase (auch Serumlipase) wirksam, aber nicht oder höchstens in Spuren die Magenlipase. Umgekehrt wirkt in der oben für Magenlipase angegebenen Lösung nur diese, aber so gut wie nicht die Pankreas- oder Darmlipase.

Um zu entscheiden, ob die Lipase in einem Mageninhalt Magen- oder regurgitierte Darmlipase ist, mache man Parallelversuche mit den beiden angegebenen Phosphatlösungen. Magenlipase wirkt in der saureren Lösung viel rascher als in der alkalischen, Darmlipase umgekehrt. Ist ein wesentlicher Unterschied nicht zu finden, so enthielt der Mageninhalt sowohl Magen- wie Darmlipase.

32. Übung.

a) Sensibilisierung eines Kolloids für Elektrolytfällung durch einen kapillaraktiven Stoff[2]).

In eine Reihe von 4 Reagenzgläsern füllt man vom 2. bis zum 4. je 2 ccm destilliertes Wasser ein. Dann füllt man in

[1]) H. Davidsohn, Biochem. Zeitschr. **45**, 284. 1912.
[2]) H. Freundlich und P. Rona, Biochem. Zeitschr. **81**, 87. 1917.

Digitized by Google

das 1. Gläschen 2 ccm nNaCl-Lösung. In das 2. füllt man 4 ccm NaCl-Lösung, mischt um und überträgt hiervon 4 ccm in das 3. Röhrchen, hiervon wieder 4 ccm in das 4. Röhrchen, entnimmt hiervon wieder 4 ccm und verwirft sie. — Somit haben wir eine geometrische Reihe von NaCl-Konzentrationen mit dem Quotienten 1,5. Man setzt zwei derartige Reihen an. In die erste gibt man unter jedesmaligem Umschütteln je 5 ccm einer Mischung von 2,5 ccm Liquor ferri oxydati und 30 ccm destilliertes Wasser; in die zweite Reihe je 5 ccm einer Mischung von 2,5 ccm Liquor ferri in 30 ccm n-Urethanlösung (8,9 proz. Lösung). Gleich nach dem Vermischen ist in beiden Reihen Röhrchen Nr. 1 bis 2 trübe. Nach einer halben Stunde schreitet die Trübung nur in der Versuchsreihe mit Urethan bis Röhrchen 3 fort. Urethan allein wirkt in keiner Konzentration fällend.

Man setze eine dritte NaCl-Reihe an und gebe in jede einige Körnchen Kampfer, sodann 5 ccm der obigen wäßrigen Eisenhydroxydverdünnung, schüttle heftig durch, um etwas von dem Kampfer in Lösung zu bringen. Auch hier schreitet die Trübung bald bis zum 3. Röhrchen vor.

Man sieht aus diesem Versuch, daß die Flockungsschwelle des NaCl durch kapillaraktive Stoffe herabgedrückt wird. Dies ist aber nur bei schwach flockenden Elektrolyten, wie NaCl zu beobachten, nicht aber bei stark flockenden, wie Na_2SO_4.

b) Beeinflussung der Sedimentierungsgeschwindigkeit durch kapillaraktive Stoffe[1]).

In 3 Reagenzgläser werden je 2 g Kaolin und 20 ccm Wasser gegeben. Das erste bleibt ohne Zusatz, zum zweiten werden einige Körnchen Thymol, zum dritten einige Körnchen Kampfer hinzugegeben, alle Röhrchen heftig durchgeschüttelt und dann in Ruhe gelassen. Das Kaolin setzt sich langsam mit scharfer Grenze ab. Nach etwa einer Stunde hat sich die Kaolingrenze in reinem Wasser um etwa 10 mm, in den beiden andern fast um das doppelte gesenkt.

Es sei daran erinnert (siehe unter „Adsorption"), daß oberflächenaktive Stoffe von Kaolin nicht in nachweisbarer Menge adsorbiert werden. Bei Kohle, welche diese Stoffe sehr gut adsorbiert, haben sie keinen Einfluß auf die Sedimentierungsgeschwindigkeit.

---

[1]) P. Rona und György, Biochem. Zeitschr. **105**, 133.

Digitized by Google

33. Übung.

Bedingt oberflächenaktive Stoffe; Einfluß der h auf die Oberflächenspannung[1]).

Es gibt Elektrolyte, welche die Oberflächenspannung des Wassers nicht schlechtweg erniedrigen, sondern bei denen die Oberflächenspannung unter sonst gleichen Bedingungen von der h der Lösung abhängt. Diese bedingte Oberflächenaktivität ist entweder dem Kation des Elektrolyten zuzuschreiben (die Salze des Chinin, Eukupin und vieler anderer Alkaloide) oder dem Anion (die gewöhnlichen höheren Fettsäuren, Undezylsäure bzw. deren Alkalisalze). Wir betrachten den Fall des salzsauren Eukupin: Eine Lösung von Eukupinum bihydrochloricum 1 : 1000 gibt für eine Tropfpipette mit dem Wasserwert 84 die Tropfenzahl 113. Diese Lösung ist infolge Hydrolyse des Salzes stark sauer. Vermindert man nun durch Phosphatpuffer die Azidität, so steigt die Tropfenzahl, und zwar zunächst allmählich und dann mit einem Sprung bis nahezu auf den Maximalwert.

Man setze folgende Lösungen an:

Nr.	1	2	3	4	5	6	7
0,1 n. NaOH	—	—	—	—	—	—	2,0
$\frac{m}{15}$ prim. Phosphat	2,0	1,4	0,98	0,69	0,48	0,34	—
$\frac{m}{15}$ sek. Phosphat	0,0	0,6	1,02	1,31	1,52	1,66	—
1‰ Eukupin-Lösung	4,0	4,0	4,0	4,0	4,0	4,0	4,0
p_h angenähert	5	6,3	6,8	6,9	7,1	8	12,6
Tropfenzahl (in reiner Lösung **113**)	124	176	187	187	185	169*)	93**)

*) Bei dieser Alkalität entstand zunächst eine Trübung. Die Tropfenzahl der getrübten Lösung betrug zuerst 213; dann wurde die Flüssigkeit filtriert. Das Filtrat zeigte eine im Verlaufe einer Stunde die wiederholt nachgemessene und als konstant befundene Tropfenzahl von 169.

**) Hier entstand sofort eine Fällung; die angegebene Tropfenzahl bezieht sich auf das Filtrat.

Die Tropfenzahl ist also schon in reinem primären Phosphat (p_h etwa = 5) ein wenig höher als in der reinen wäßrigen Lö-

[1]) J. Traube und R. Somogyi, Internat. Zeitschr. für physikochem. Biologie **1** (1914); ferner W. Windisch und W. Dietrich, Biochem. Zeitschr. **97**, 135 (1919); **100**, 130 (1919) und andere Arbeiten ibidem.

Digitized by Google

sung des Eukupinum bihydrochloricum, welche infolge der Hydrolyse dieses Salzes sehr sauer ist. Mit zunehmendem p_h erreicht die Tropfenzahl bei p_h etwa 6 fast sprunghaft einen viel höheren Wert, welcher bei 6,8 das Maximum erreicht hat (wenn man nur die definitiven Tropfenwerte berücksichtigt) und von $p_h = 8$ wieder zu fallen beginnt. Bei $p_h = 12$ ist die Tropfenzahl fast wieder auf den reinen Wasserwert gesunken.

Die Deutung der Erscheinung kann folgendermaßen gegeben werden: Der oberflächenaktive Stoff ist die freie Eukupinbase (nicht das Eukupin-Ion!). Diese ist in der Lösung des Eukupinsalzes infolge Hydrolyse schon in sehr geringen Mengen vorhanden und wird mit zunehmender Alkalität der Lösung immer reichlicher. Sie ist in Wasser, wie alle ganz stark oberflächenaktiven Stoffe, kaum löslich (s. Dezylalkohol, 27. Übung) und gibt gute stalagmometrische Ausschläge nur, wenn sie in übersättigter oder sehr fein disperser kolloider Lösung vorhanden ist. Alkalisiert man ein wenig, so bleibt die in Freiheit gesetzte Base in übersättigter (oder kolloider) Lösung (Röhrchen 2—5); alkalisiert man stärker (Nr. 6), so fällt die Base zum großen Teil aus; ganz im Anfang hat man eine sehr hohe Tropfenzahl, sie wird aber im Lauf der Zeit kleiner. Alkalisiert man noch stärker (Röhrchen Nr. 7), so fällt die Base einfach quantitativ aus und die Tropfenzahl sinkt fast auf den reinen Wasserwert.

Wie auch sonst, sind die H- bzw. OH-Ionen nicht allein auf die Oberflächenspannung der bedingt kapillaraktiven Stoffe von Einfluß. Es finden sich dieselben Ionenreihen wieder, wie auch bei andern Ionenwirkungen. Nur haben auch hier wieder von den gewöhnlichen einwertigen Ionen die H- und OH-Ionen bei weitem die größte Wirksamkeit. Die bedingt oberflächenaktiven Stoffe gehören zu den pharmakologisch wirksamsten Substanzen.

34. Übung.

Titration mit einem bedingt oberflächenaktiven Stoff als Indikator[1]).

Die soeben beschriebene Eigenschaft des Eukupin, bei einem bestimmten p_h seine Oberflächenspannung sprunghaft zu ändern, macht einen derartigen Stoff geeignet, um als Indikator bei der azidimetrischen Titration verwendet zu werden. Die Methode ist angezeigt bei der Titration stark gefärbter und getrübter Flüssigkeiten, in denen man den Umschlag eines Farbindikators

[1]) Windisch und Dietrich, l. c.

Digitized by Google

nicht erkennen kann. Zur Demonstration wollen wir 0,1 n. Ammoniak gegen 0,1 n. HCl titrieren.

In eine Porzellanschale gibt man 10 ccm 0,1 n. HCl und 10 Tropfen einer 1 proz. Lösung von Eukupin. bihydrochloricum. Man setzt portionsweise 0,1 n. NH_3 hinzu und bestimmt nach jeder Portion die Tropfenzahl. Man saugt jedesmal eine genügende Portion in die Tropfpipette und läßt sie in die Titrierschale vollkommen zurücktropfen, Es fanden sich z. B. folgende Werte:

Nach Zusatz von ... ccm 0,1 n. NH_3	war die Tropfenzahl
0,0	92
5,0	92
7,0	92
9,0	95
9,5	97
10,0	125
10,5	122

Der Sprung tritt also bei 10 ccm, dem erwarteten Endpunkt der Titration, ein. Der Umschlagspunkt entspricht etwa dem des Methylorange.

VII. Diffusion, Osmose, Filtration.

Ein in verdünnter Lösung befindlicher Stoff verhält sich in seinem Lösungsmittel in manchen Beziehungen ebenso wie ein Gas im leeren Raum. Der gelöste Stoff hat Expansionsvermögen über das ganze Lösungsmittel hin; dies ist die Triebkraft der Diffusion. Wird die Expansion in das reine Lösungsmittel durch eine semipermeable Wand gehindert, so übt der gelöste Stoff auf diese Wand einen osmotischen Druck aus. Man sagt deshalb auch, der osmotische Druck ist die Ursache der Diffusion. Jedes Partikel, welches bei der Brownschen Molekularbewegung in sich starr ist und eine einheitliche Bewegung ausführt, hat den gleichen Anteil am osmotischen Druck der Lösung; sei dies ein Ion, Molekül oder ein Riesenkomplex, wie ein Eiweißkomplex oder gar ein Mastixteilchen.

Ist der gelöste Stoff ein Nichtelektrolyt, so sind die Gasgesetze glatt zu übertragen. Bei Elektrolyten treten elektrostatische Wirkungen der Ionen aufeinander und auf die Wassermoleküle hinzu, welche für den Fall der freien Diffusion nach

Digitized by Google

Nernst leicht zu berechnen sind, für den Fall der Diffusion durch Membrane aber erst am Beginn der Erforschung stehen. Es steht zunächst fest, daß die Osmose bei Elektrolyten von der Natur der Membran abhängt.

Eine Membran, die nur für das Lösungsmittel durchgängig ist, nicht für den gelösten (oder suspendierten) Stoff, heißt eine semipermeable Membran. Die vollkommenste semipermeable Membran ist die M. Traubesche Niederschlagsmembran in Form der Pfefferschen Zelle (z. B. aus Ferrozyankalium + $CuSO_4$); sie läßt nicht einmal einfache Salze hindurch. Pergament, Kollodium, Schweinsblase hat gröbere Poren: die Diffusionsunfähigkeit eines Stoffes durch eine solche Membran ist definitionsgemäß das Kriterium dafür, daß er kolloid ist.

Werden solche Membranen als Filter benutzt, so wird das Lösungsmittel unter dem eigenen hydrostatischen Druck oder durch künstlich erzeugten Überdruck hindurchgepreßt. Auch hierbei zeigt sich die verschiedene Durchlässigkeit für große und kleine Moleküle oder Komplexe.

35. Übung.

Diffusion.

Anschauung von der Geschwindigkeit der Diffusion erhält man am besten, wenn man eine Lösung in erstarrte Gelatine diffundieren läßt; die Diffusionsgröße ist zwar nicht völlig identisch mit der bei ganz freier Diffusion, aber doch nur wenig verschieden von ihr. Man fülle eine Reihe von Reagenzgläsern mit einer 10 cm hohen Schicht von 10 proz. Gelatinelösung. Nach dem Erstarren schichtet man auf diese die Lösung. Als solche benutze man z. B.:

	Diffusion nach 24 Stunden
10 proz. $CuSO_4$	10,0 mm
1 promill. Eosin	5,0 „
1 „ Methylenblau	3,0 „
1 „ Kongorot	0 „
Dünne Hämoglobinlösung (lackfarbenes Blut)	0,7 „
Mastixsol (s. S. 9)	0 „
Lösliches Berlinerblau	0 „

Die Diffusion wird, sofern es sich um molekulardisperse Stoffe handelt, mit steigendem Molekulargewicht kleiner. Kolloide diffundieren noch viel langsamer, grobe Suspensionskolloide ganz unmerklich.

Digitized by Google

Man beachte, daß beim Hämoglobin die Diffusion noch gut erkennbar ist.

Ein sehr hübscher Versuch ist die Herstellung der Liesegangschen Ringe. 4 g Gelatine werden in 120 g Wasser unter Erwärmen gelöst und 0,12 g Kaliumbichromat darin gelöst. Diese Lösung wird einerseits in einige Petrischalen in recht dünner Schicht ausgegossen, andererseits in eine Reihe von Reagenzgläsern in 10—15 cm hoher Schicht eingefüllt. Nach dem völligen Erstarren der Gelatine setze man vorsichtig auf die Mitte der Petrischale einen Tropfen 8,5proz. Lösung von $AgNO_3$ und lasse die Schale bedeckt in völliger Ruhe stehen. Auf die in den Reagenzgläsern erstarrte Gelatine schichte man sehr vorsichtig 5 ccm der gleichen Silberlösung, indem man sie an der Wand des Glases aus einer Pipette entlang fließen läßt. Am nächsten Tage haben sich konzentrische Ringe, im Reagenzglas horizontale Schichten von braunem Silberchromat abgeschieden, deren Zahl noch nach Tagen immer zunimmt. Der Abstand der Schichten wird vom Zentrum (bzw. vom oberen Rand der Gelatine aus) immer weiter. Die Erklärung ist folgende: Das Silbersalz diffundiert in die Gallerte, es bildet sich in ihr das sehr schwer lösliche Silberchromat, welches zunächst in übersättigter Lösung bleibt. Sobald durch Nachdiffusion von Silbersalz die Übersättigung einen gewissen Grad erreicht, erfolgt plötzlich Abscheidung des Silberchromats und Aufhebung der Übersättigung. Das schon weiter entfernte Silberchromat diffundiert deshalb in die Kristallisationsgegend zurück und wird in Berührung mit der festen Phase ebenfalls abgeschieden. Nun erfolgt weiterhin Diffusion von Silbersalz und der Vorgang wiederholt sich. Voraussetzung für die Möglichkeit dieser Erscheinung ist der Umstand, daß das abgeschiedene Silberchromat keine so dichte Membran bildet, daß sie für das nachdiffundierende Silbernitrat undurchlässig wäre. Eine Ferrozyankupfermembran z. B. wäre für alle Salze undurchlässig und würde den Diffusionsweg einfach versperren, solange sie dem osmotischen Druck mechanisch Stand hält.

36. Übung.

Dialyse.

Dialyse ist die Trennung eines Kolloids von diffusionsfähigen Stoffen mit Hilfe von Membranen durch spontane Osmose.

Die haltbarsten Dialysiermembranen sind Pergamentschläuche. Man benutze besonders die ausgezeichneten „Dif-

Digitized by Google

fusionshülsen" von Schleicher und Schüll, kleines Format (Inhalt etwa 10 ccm). Man fülle sie mit 5 ccm Lösung und stelle sie in ein kleines Bechergläschen, welches außen Wasser bis zum gleichen Niveau enthält. Füllt man innen eine 0,85 proz. NaCl-Lösung ein, so ist in der Außenflüssigkeit schon nach wenigen Minuten Cl nachweisbar. Füllt man Blutserum ein, so ist nach 24 Stunden außen kein Eiweiß nachweisbar. Ebenso findet man, daß Eosin hindurchgeht. Man nehme eine 1 proz. Lösung. Zuerst wird Eosin durch Adsorption an der Membran festgehalten, erst wenn das Adsorptionsgleichgewicht eingetreten ist, beginnt der Durchtritt des Farbstoffs. Kongorot dagegen diffundiert gar nicht durch die Hülse.

Von anderen Dialysierhülsen muß man vor allem die Kollodiummembran kennen lernen. Sie wird entweder wie auf S. 79 hergestellt, oder, nach dem Vorschlag von Wo. Ostwald, auch auf folgende Weise. Eine aus Filtrierpapier (nicht Pergament!) hergestellte „Extraktionshülse" von Schleicher und Schüll wird mit Kollodium gefüllt, und dieses wieder ausgegossen, und die Hülse während des Trocknens der hängen gebliebenen Wandschicht des Kollodiums in horizontaler Lage um die Längsachse gedreht. Man kann auch einfach einen Zylinder aus Filtrierpapier herstellen, indem man die sich 1—2 cm breit überdeckenden Ränder mit Kollodium zunächst anklebt, und dann einen Boden von Filtrierpapier mit Kollodium aufklebt. Dann gießt man die Innenseite mit Kollodium aus und dichtet besonders noch den Rand des aufgeklebten Bodens. Nach dem Trocknen wird die Hülse etwas gewässert und ist lange Zeit brauchbar, wenn sie stets feucht gehalten wird.

Die Dialyse von Blutserum mit verschiedenen Membranen ergibt ein verschiedenes Endresultat in bezug auf die durch Osmose angesaugte Wassermenge.

In einem ersten Versuch benutze man eine kleine „Diffusionshülse" von Schleicher und Schüll, die aus Pergamentpapier besteht. Diese wird mit Wasser gut durchtränkt, das Wasser ausgegossen und mit 5 ccm Blutserum gefüllt. Diese Hülse wird in ein kleines (am besten oben leicht konisch verjüngtes) Becherglas gestellt und in dieses so viel „Außenflüssigkeit" eingefüllt, daß die Niveaus außen und innen annähernd gleich sind. Als Außenflüssigkeit benutze man in einem Versuche destilliertes Wasser, in einem Parallelversuch 0,85 proz. ClNa-Lösung. Diese Außenlösungen werden zunächst einigemale alle halben Stunden erneuert, dann über Nacht stehen gelassen. Dann entleert man den Inhalt jeder Hülse in einen Meßzylinder.

Digitized by Google

In dem Versuch mit ClNa-Lösung ist das Volumen kaum größer geworden, in dem mit destilliertem Wasser ist es etwa um $^1/_3$ vermehrt, außerdem hat sich ein Niederschlag von Globulin gebildet.

Das gleiche Versuchspaar setze man an, indem man eine Kollodiumhülse benutzt, die wie S. 79 hergegestellt ist. Man macht sie von gleichem Durchmesser, aber lieber etwas höher als die Pergamentmembran.

Hier ist in beiden Versuchen, sowohl mit destilliertem Wasser wie mit ClNa-Lösung, nach 24 Stunden das Volumen sehr erheblich vermehrt.

Eiweiß ist in keinem der vier Versuche in die Außenflüssigkeit übergegangen.

37. Übung.

Die Kompensationsdialyse[1]).

Wenn in einer kolloiden Flüssigkeit wie Blutserum oder Eisenhydroxyd ein diffusionsfähiger Stoff gelöst ist, könnte ein Teil desselben an das Kolloid gebunden sein. Es wird die Aufgabe gestellt, den freien Anteil dieses Stoffes festzustellen. Das Problem liegt z. B. vor bei Frage nach der Menge des freien Zuckers oder der freien Ca-Ionen im Serum. Diese Frage kann durch die Kompensationsdialyse gelöst werden. Man bestimmt in einer Probe Serum den gesamten Zucker, und an einer Reihe anderer Proben macht man folgende Versuche. Eine möglichst große Menge (50 ccm) Serum wird gegen eine möglichst kleine Menge einer Lösung von Zucker in 0,85 proz. ClNa bekannter Zuckerkonzentration dialysiert. Die Konzentration wird in verschiedenen Parallelversuchen variiert und diejenige Konzentration ermittelt, welche bei der Dialyse weder ab- noch zunimmt. Sie ist gleich der Konzentration des freien Zuckers im ursprünglichen Serum. Da die Methode viele chemische Analysen erfordert, sei sie an einem anderen Beispiel[2]) beschrieben, welches einigermaßen analog ist. Es soll untersucht werden, ob Heptylalkohol von kolloidalem Eisenhydroxyd adsorbiert wird.

In ein kleines, nach oben leicht konisch verjüngtes Becherglas werden 25 ccm kolloide Eisenhydroxydlösung (Liquor ferri oxychlorati dialysati duplex, Merck) eingefüllt. In eine kleine Dialysierhülse von Schleicher und Schüll werden 5 ccm einer ge-

[1]) L. Michaelis u. P. Rona, Biochem. Zeitschr. **14**, 476, 1908.
[2]) L. Michaelis u. P. Rona, Kolloidzeitschrift **25**, 225, 1919.

Digitized by Google

sättigten filtrierten Lösung von Heptylalkohol eingefüllt und die Dialysierhülse dann in die Eisenlösung eingesenkt. Das Becherglas wird mit einem paraffinierten Korken luftdicht verschlossen. Ein zweiter Versuch wird ebenso angesetzt, nur wird statt Eisenlösung destilliertes Wasser genommen. Nach 2—3 Tagen wird der Inhalt der beiden Dialysierhülsen stalagmometrisch untersucht. Es fanden sich z. B. in einem Versuch im Eisenversuch 116 Tropfen, im Kontrollversuch 116 Tropfen (Wasserwert der Tropfpipette 85 Tropfen). Eine Heptylalkohollösung, welche 116 Tropfen gibt, hat nach Verdünnung mit 10 proz. Wasser 114 Tropfen, mit 20 proz. Wasser 111 Tropfen. Also ist von den in der kolloiden Lösung schwebenden Teilchen keine nachweisbare Menge Heptylalkohol adsorbiert worden; mit Bestimmtheit jedenfalls nicht 10 Prozent.

38. Übung.

Osmose.

Wenn eine Lösung von dem reinen Lösungsmittel durch eine Membran getrennt ist, die für das Lösungsmittel durchgängig ist, für den gelösten Stoff nicht oder schwerer, so zieht die Lösung Wasser durch die Membran an. Membranen, welche vollkommen semipermeabel sind, wie Ferrozyankupfer, sind schwierig zu behandeln. Leichter kann man mit Kollodium arbeiten, welches allerdings nur in beschränktem Maße semipermeabel zu nennen ist. Bei einer wirklich semipermeablen Membran wird das Wasser bis zu einer gewissen Höhe angesogen, welche man den osmotischen Druck der Lösung nennt. Bei einer nur beschränkt semipermeablen Membran wie Kollodium[1]) stellt sich kein definitives Gleichgewicht in bezug auf den osmotischen Druck ein, sondern, weil schließlich auch der gelöste Stoff in seiner Konzentration sich ausgleicht, ist das endgültige Gleichgewicht die Einstellung auf gleiches Niveau. Aber der osmotische Wasserstrom ist gut zu beobachten und der Druck dieses Wasserstroms ist meßbar, wenn auch mit der Zeit veränderlich.

Man gieße einen kleinen Glaszylinder (breiten Meßzylinder von 25 ccm Inhalt) voll Kollodium, gieße das Kollodium zum

[1]) In Anlehnung an Lillie, Amer. Journ. of Physiol. **20**, 127. 1907; S. P. L. Sörensen, Zeitschr. f. physiol. Chemie **106**, 1. 1919; Jacques Loeb, Journ. of general Physiology **1**, (mehrere Arbeiten) 1918.

Digitized by Google

größten Teil wieder aus und lasse das zurückbleibende Kollodium trocknen, indem man den Zylinder in horizontaler Lage ständig rollt. Dann gieße man noch eine Schicht Kollodium hinein und lasse in gleicher Weise nochmals trocknen. Wenn das Kollodium fest geworden ist, lasse man es eine Weile weiter trocknen. Dann kann man vorsichtig den gebildeten Kollodiumschlauch von der Glaswand ablösen und aus dem Glaszylinder herausziehen. Man wässert ihn noch einige Zeit, füllt ihn zur Hälfte mit destilliertem Wasser, trocknet ihn oben gut ab und setzt einen durchbohrten Gummistopfen auf. Durch die Bohrung geht ein 1—2 mm breites Steigrohr von etwa 30 cm Länge mit einer Millimeterteilung (graduierte 1 ccm-Pipette) (Fig. 9). Man klebe den Gummistopfen durch einen Ring von Kollodium luftdicht an und blase nach dem Trocknen durch das Steigrohr vorsichtig einige Luftblasen in den Schlauch. Ist die Dichtung gut, so steigt danach das Wasser etwas in das Steigrohr und hält seinen Stand. Man befestige das Steigrohr mit einem Stativ und stelle den Kollodiumsack so auf, daß er in ein Gefäß mit destilliertem Wasser taucht. Das Niveau im Steigrohr fällt dann so langsam, daß man es auf längere Zeit als konstant betrachten oder wenigstens die Geschwindigkeit seines Abfalls in den späteren Versuchen als Korrektur anbringen kann.

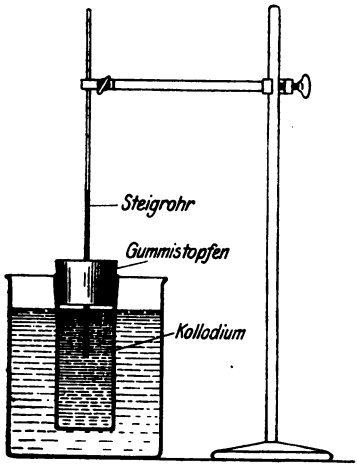


Fig. 9. Einfacher Osmometer aus Kollodium.

Will man eine größere Reihe von Versuchen mit dem gleichen Kollodiumschlauch machen, so braucht man einen leicht abnehmbaren Verschluß, damit man den Kollodiumsack immer wieder brauchen kann. Am einfachsten nimmt man den Kollodiumschlauch mit eingeklebtem Gummistopfen und Steigrohr genau in der beschriebenen Anordnung. Wenn das Steigrohr zwar luftdicht, aber nicht zu fest in dem Stopfen steckt, kann man es leicht herausnehmen und durch das Loch im Stopfen vermittelst einer Pipette die alte Flüssigkeit herausziehen, mit Wasser in derselben Weise nachwaschen und die neue Lösung einfüllen. Solch ein Osmometer ist lange haltbar. Das Wich-

Digitized by Google

tigste ist eine gute Kollodiumsorte. Mit schlecht-elastischem Kollodium kann man nicht arbeiten[1]).

Zunächst fülle man den Schlauch mit 10 proz. Rohrzuckerlösung und setze ihn in destilliertes Wasser. Das Niveau im Steigrohr steigt dann mit großer Geschwindigkeit auf. Sodann wiederhole man diesen Versuch mit m/64 (2,16%) Rohrzuckerlösung. In dieser Lösung ist eine Steigung infolge des stark verminderten osmotischen Druckes kaum mehr bemerkbar.

Wenn man Lösungen von Elektrolyten benutzt, so ändern sich diese Verhältnisse bedeutend und können nicht mehr aus den einfachen Gesetzen des osmotischen Druckes erklärt werden.

Die Strömungsgeschwindigkeit der Natur der Elektrolyten hängt von gewissen Vorbehandlungen des Kollodiums stark ab. Wir stellen den Kollodiumschlauch 24 Std. in eine 1 proz. wässerige Gelatinelösung und waschen die Gelatine mit warmem Wasser längere Zeit aus. Die Eigenschaften einer solchen Membran ersieht man aus folgenden Versuchen[2]): Wir füllen den Kollodiumschlauch der Reihe nach mit folgenden Lösungen:

1. m/64 Saccharose
2. m/128 NaCl
3. m/192 $CaCl_2$
4. m/192 Na_2SO_4.

Diese 4 Lösungen haben den gleichen osmotischen Druck, aber im Kollodiumschlauch eine ganz verschiedene Osmosegeschwindigkeit. Es fanden sich z. B. in 10 Minuten folgende Niveauanstiege in mm:

1. Saccharose: Anstieg kaum merklich
2. NaCl: 11 mm in 10 Minuten
3. $CaCl_2$: 22 mm in 10 Minuten (in 40 Minuten etwa 80 mm!)
4. Na_2SO_4: 3 mm in 10 Minuten.

Es gibt sogar Lösungen, bei denen eine negative Osmose eintritt, d. h. wo das Wasser von der Salzlösung in das reine Wasser strömt. Für die gelatinierte Kollodiummembran kann man z. B. mit sehr verdünnten Lösungen von HCl oder $AlCl_3$ diese negative Osmose beobachten. Füllt man den Kollodiumschlauch innen mit reinem Wasser (also umgekehrt als vorher) und setzt ihn

---

[1]) Brauchbares Kollodium liefert Chem. Fabrik auf Aktien (vorm. E. Schering), Berlin N.

[2]) Jacques Loeb, l. c.

Digitized by Google

in n/1000 HCl, so beobachtet man mit dem gleichen Osmometer einen Niveauanstieg von 5 mm in 10 Minuten. Bei höheren HCl-Konzentrationen wird die Osmose wieder positiv.

39. Übung.

Ultrafiltration.

Benutzt man eine für Kolloide undurchlässige Membran als Filter, so nennt man das ein Ultrafilter.

Das einfachste Ultrafilter kann man auf folgende Weise machen[1]). Ein „Filterhütchen" von Schleicher und Schüll oder auch einfach ein gewöhnlicher Filter wird in einen Trichter gut angelegt, mit warmem Wasser durchtränkt, das Wasser gut abgetropft und noch feucht mit Kollodium ausgegossen, das Kollodium wieder möglichst abgegossen und die hängenbleibende, ganz dünne Kollodiumschicht in horizontaler Lage des Trichterrohres bis zur vorläufigen Trocknung gedreht, dann mit der Spitze nach unten montiert, weitere 10 Minuten getrocknet, nochmals mit einer dünnen Kollodiumschicht ausgegossen und mit der Spitze nach oben 10 Minuten an der Luft getrocknet und 10 Minuten gewässert. Dieses Filter läßt in der Regel schon bei gewöhnlichem Druck Wasser durch; viel schneller, wenn man mit der Pumpe ansaugt. Da das Filter nicht luftdicht anliegt, erreicht die Pumpe nur einen sehr geringen negativen Druck, aber dieser genügt völlig. Die Dichtigkeit des Filters wird zunächst mit Mastixsol geprüft (Herstellung wie auf S. 9; man verdünnt, bis nur eine schwache Trübung bleibt). Je nach der Konzentration der angewendeten Kollodiumlösung sind die Filter mehr oder weniger durchlässig. Eine aus gewöhnlicher, aus der Apotheke bezogener 4proz. Kollodiumlösung hergestelltes Filter läßt aus 10fach mit destilliertem Wasser verdünntem Blutserum kaum eine Spur Eiweiß hindurch. Die Dichtigkeit prüft man[1]) mit Nachtblau, Kongorot und Kollargol. Dichte Filter lassen keinen der drei Stoffe durch, weniger dichte halten Nachtblau und Kongorot zurück, noch weniger dichte nur Nachtblau. Die Güte der Kollodiumsorte ist von großem Einfluß auf die Dichtigkeit.

Die Undurchlässigkeit eines Ultrafilters für dispergierte Teilchen und Moleküle beruht zweifellos zum Teil auf einem einfachen räumlichen Mißverhältnis zwischen den zurückgehaltenen Teilchen und der Porengröße des Filters. Man darf das aber

[1]) Wo. Ostwald, Kolloid-Zeitschr. **22**, 143. 1918.

Digitized by Google

nicht als den einzigen Faktor ansehen: Quecksilber läuft durch Poren eines gewöhnlichen Papierfilters oder durch eine enge kapillare Glasröhre nicht ohne weiteres durch, während es durch eine metallene Kapillare leicht durchfließt. Die Theorie der Ultrafiltration ist noch sehr unvollkommen.

40. Übung.

Gefrierpunktserniedrigung.

Der osmotische Druck echter Lösungen wird am häufigsten an der Siedepunktserhöhung oder Gefrierpunktserniedrigung gemessen, dem er proportional ist. Wir wollen die Gefrierpunktsmethode an einem Beispiel zeigen (0,85 NaCl, 10% Saccharose). Man benutzt den Beckmannschen Apparat (Fig. 10). Dieser besteht aus einem äußeren, größeren Glasgefäß mit einem Deckel, der drei Bohrungen trägt. In der einen ganz kleinen steckt ein Rührer, die zweite trägt ein kleines Thermometer (nicht mitgezeichnet), die größte, mittlere trägt ein zylindrisches Rohr und in diesem steckt, vermittelst eines durchbohrten Stopfens, ein engeres zylindrisches Gefäß, das eigentliche Reaktionsgefäß. Dasselbe ist oben mit einem doppelt durchbohrten Kork verschlossen. Durch die eine Bohrung geht das Beckmannsche Thermometer, durch die andere der Rührer. Seitlich ist ein Stutzen angebracht.

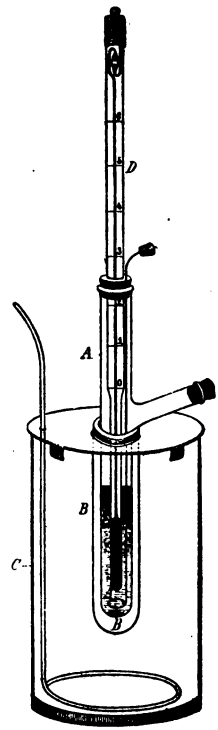


Fig. 10. Apparat zur Gefrierpunktsbestimmung.

Das Beckmannsche Thermometer ist ein Thermometer, dessen Skala etwa 6° umfaßt, an dem man die Hundertstel Grad ablesen und die Tausendstel schätzen kann. Es zeigt keine absoluten Temperaturwerte an, sondern die Menge des Quecksilbers kann so reguliert werden, daß der Quecksilberfaden in dem jeweils benötigten Temperaturintervall in die Skala reicht. Die Einstellung auf das gewünschte Temperaturgebiet wird dadurch ermöglicht, daß oben ein Quecksilberreservoir angebracht ist, von dem man Quecksilber entnehmen kann. Man dreht das Thermometer um und bringt durch Anklopfen das Vorratsquecksilber an das obere

Digitized by Google

Ende der Erweiterung, richtet das Thermometer vorsichtig auf und erwärmt es in warmem Wasser, bis der Quecksilberfaden sich mit dem Vorratsquecksilber vereinigt. Dann kühlt man es in einem Wasserbade ab, welches $2-3^{\circ}$ wärmer als die gewünschte Temperatur ist (also für Gefrierpunktserniedrigung wäßriger Lösung etwa auf $+2^{\circ}$ C). Dann schüttelt man das überschüssige Quecksilber von dem Quecksilberfaden ab.

Das äußere, große Gefäß füllt man mit einer Mischung von Wasser, zerkleinertem Eis und etwas Salz und stellt es etwa 5° tiefer ein als den zu erwartenden Gefrierpunkt. Nun füllt man den innersten Zylinder so weit mit Wasser, daß die Quecksilberkugel des Thermometers reichlich überragt wird und steckt den Zylinder, mit Thermometer und Rührer versehen, in die Kältemischung, entweder indem man den Deckel abnimmt oder auch durch eine eigens dazu angebrachte Bohrung des Deckels. Unter ständigem Auf- und Abziehen des ringförmigen Rührers läßt man nahezu bis auf die erwartete Gefriertemperatur abkühlen, zieht den Zylinder heraus, trocknet ihn ab und setzt ihn in das mittlere Gefäß, wie in der Zeichnung. Unter regelmäßigem, langsamem Auf- und Abziehen des Rührers, ohne das Thermometer zu streifen, läßt man bis etwa $0{,}5^{\circ}-2^{\circ}$ unter den erwarteten Gefrierpunkt abkühlen und bringt das Wasser dann plötzlich zum Gefrieren, entweder durch heftigeres Rühren oder, wenn das nicht zum Ziel führt, durch Einbringen eines kleinen Eiskristalls. Dieses bringt man auf das Ende eines dünnen Glasstäbchens, führt es durch den seitlichen Stutzen und streift das Kriställchen an dem erhobenen Rührer ab. Sobald man den Rührer in das Wasser zurückbringt, tritt Gefrierung ein, das Thermometer steigt plötzlich. Man rührt zunächst heftig. Dann setzt man in sehr regelmäßiger Weise die Rührung fort, etwa 1 Hub in der Sekunde, bis das Thermometer einen völlig konstanten Stand erreicht hat. Diesen Stand liest man mit der Lupe ab, unter Schätzung der Tausendstel Grade, und betrachtet ihn als den Gefrierpunkt des reinen Wassers. Man wiederhole diese Eichung einige Male.

Als Übungsbeispiel bestimme man nun den Gefrierpunkt einer Lösung von 6,84 g Rohrzucker in 100 g Wasser. Man fülle die Lösung genau so hoch in das Gefriergefäß wie vorher das Wasser ein. Die Gefrierpunktserniedrigung soll $0{,}372^{\circ}$ betragen und muß innerhalb einiger Tausendstel Grade so gefunden werden. Man beachte dabei folgendes. Eine Rohrzuckerlösung hat nicht, wie reines Wasser, einen konstanten Gefrierpunkt. Da beim Frieren der Zucker nicht mit ausfriert, so

Digitized by Google

konzentriert sich die Lösung während des Ausfrierens. Die obige Zahl gilt nur für die Bedingung, daß noch wenig Eis gefroren ist; die Lösung soll zwar eine deutliche Menge, aber nicht zu reichlich Eis enthalten, wenn man die Ablesung macht.

Das Molekulargewicht M des Rohrzuckers berechnet man nach der Gleichung:

$$M = E \cdot \frac{s}{\Delta L}.$$

E ist eine Konstante, die von der Natur des Lösungsmittels abhängt und für Wasser 1,86 beträgt. s ist das Gewicht des gelösten Stoffes in Grammen, L das Gewicht des Lösungsmittels in Kilogrammen. (Ist eine zu reichliche Menge Eis ausgefroren, so müßte man die Menge dieses Eises hiervon abziehen.) Δ ist die beobachtete Gefrierpunktserniedrigung.

Diese Lösung enthielt $^1/_5$ Mol. Zucker auf 1 Liter Lösungsmittel. Harnstoff in gleicher molarer Konzentration (1,20 g + 100 g Wasser) würde dasselbe Δ ergeben. Dagegen gibt NaCl in gleicher molarer Konzentration (1,168 g + 100 g Wasser) fast eine doppelt so große (etwa 1,8 mal so große) Erniedrigung als Ausdruck dafür, daß etwa 90% des Salzes elektrolytisch dissoziiert sind.

Die Gefrierpunktserniedrigung des Blutes beträgt 0,58°. Der osmotische Druck ist der Gefrierpunktserniedrigung Δ proportional und beträgt für eine Lösung mit $\Delta = 1°$ bei 18° fast 12 Atmosphären. Ein so hoher Druck ist experimentell direkt nicht zu messen, weil es keine semipermeable Membran gibt, die bei diesem Druck nicht platzen würde. Ein Δ von 0,001° bedeutet also schon einen osmotischen Druck von 120 cm Wasser. Die osmotischen Drucke von Kolloiden, die wir sogleich zeigen werden, betragen nur kleine Bruchteile hiervon. Es folgt daraus, daß die Gefrierpunktserniedrigung, die Kolloide hervorrufen können, unmeßbar klein sein müssen.

41. Übung.

Messung des osmotischen Drucks kolloider Lösungen[1]).

Die direkte Messung des osmotischen Druckes einer kolloiden Lösung ist viel leichter als die einer echten Lösung, weil es viel leichter ist, für Kolloide semipermeable Membranen herzustellen als für molekulardisperse Lösungen. Die geeignete Membran ist

[1]) In Anlehnung an Jacques Loeb und S. P. L. Sörensen, zitiert unter „Osmose".

Digitized by Google

das Kollodium. Wir benutzen sie in genau derselben Form, wie sie S. 80 beschrieben worden ist. Bei der Messung des osmotischen Druckes kommt es aber nicht auf eine Geschwingkeitsmessung des Wasserstroms an, wie in den Versuchen über die Wasserosmose, sondern auf die definitiv erreichte Steighöhe, gemessen vom äußeren freien Flüssigkeitsspiegel. Man messe den osmotischen Druck einer 1 proz. Lösung von reiner Gelatine in reinem Wasser. Die Lösung wird in das Osmometer eingefüllt. Völlige Ausfüllung derselben ist nicht nötig; außen steht reines Wasser. Das Steigrohr wird von einem Stativ gehalten, so daß der Kollodiumschlauch in das äußere Wasser nicht ganz bis an den Gummistopfen eintaucht. Im Winter lasse man das ganze in der Nähe des Ofens stehen, weil in der Kälte die Lösung zähe wird. Man blase vorher den Schlauch ein wenig auf, daß die Lösung etwas in das Steigrohr gedrückt wird, um sich von der Dichtigkeit des Verschlusses zu überzeugen. Man überzeuge sich ferner, indem man den Kollodiumsack leicht hebt und senkt, daß das Niveau im Steigrohr frei spielt. Luftblasen im Steigrohr müssen vermieden werden. Nach 24 Stunden hat sich der definitive Stand eingestellt. Er beträgt etwa 20—50 mm über dem äußeren Wasserspiegel. Einen zweiten Versuch macht man mit angesäuerter Gelatinelösung (2 proz. Gelatinelösung 50 ccm + 2 ccm nHCl + 48 ccm Wasser). Als Außenlösung benutzt man 1/50 nHCl. Hier beträgt der osmotische Druck mehr; etwa 70 mm. Der osmotische Druck eines Kolloids hängt also nicht allein von seiner Konzentration, sondern auch von dem Milieu ab. In der reinen Gelatinelösung herrscht nahezu die h des isoelektrischen Punktes der Gelatine (p_h gewöhnlich gegen 6; isoelektrischer Punkt der Gelatine bei $p_h = 4{,}7$). Im isoelektrischen Punkt hat die Gelatine ein Minimum des osmotischen Druckes. In stark saurer (oder alkalischer) Lösung ist die Gelatine positiv (bzw. negativ) geladen, sie bildet Ionen, welche sich mehr der molekularen Dispersion nähern oder sie sogar ganz erreichen und daher einen größeren osmotischen Druck haben. Hierzu kommt als bedeutendes Moment hinzu, daß die positiven Gelatineteilchen negative Cl-Ionen elektrostatisch festhalten und daher impermeabel machen, so daß auch deren osmotischer Druck zur Geltung kommt.

Statt Gelatinelösung kann man auch z. B. dreifach verdünntes Blutserum benutzen; als Verdünnungsflüssigkeit sowie als Außenflüssigkeit in einem Versuch 0,85 proz. ClNa-Lösung; in einem zweiten destilliertes Wasser oder 1/50 nHCl; wiederum zeigt sich der osmotische Druck vom Milieu abhängig. Diese Abhängigkeit

Digitized by Google

geht in vielen Beziehungen parallel dem Einfluß der verschiedenen Salze auf die Osmosegeschwindigkeit durch eine gelatinierte Kollodiummembran (s. S. 81).

Blutserum, mit 0,85 proz. ClNa-Lösung dreifach verdünnt, zeigt gegen 0,85 proz. ClNa-Lösung einen osmotischen Druck von etwa 143 mm; bei 5facher Verdünnung etwa 75 mm. Die Werte sind nur als Anhaltspunkte zu betrachten; der osmotische Druck der Kolloide hängt in hohem Maße von der Salzkonzentration und der h der Lösung ab.

Alles das sind nur Demonstrationsversuche. Für wirklich messende Versuche sind kompliziertere Vorrichtungen zur Konstanterhaltung der Temperatur u. a. erforderlich.

VIII. Quellung, Viskosität, Gallertbildung.

Das wasserbindende Vermögen eines molekulardispers löslichen Stoffes äußert sich darin, daß er bei Berührung mit Wasser spontan in Lösung geht und spontan oder schneller, zur Unterstützung der Diffusion, beim Schütteln, über das ganze Volumen des Lösungsmittels sich ausbreitet. Bei einem Gel kann sich mitunter das Wasserbindungsvermögen darauf beschränken, daß es quillt, aber sich nicht über das ganze Volumen des Lösungsmittels verbreitet, sondern sich nur auf ein bestimmtes Volum ausdehnt und scharfe Grenzen gegen den Rest des Lösungsmittels behält. Man kann sich das, wie mir scheint, am einfachsten, wenn auch nicht in allgemein anerkannter Weise, so vorstellen: Das feste Gel hat eine Netz- oder Wabenstruktur. In Berührung mit Wasser bildet es ein zweiphasiges System; die Wände bestehen aus viel Kolloid mit wenig Wasser, die Zwischenräume aus einer dünneren, feiner dispersen, wahrscheinlich sogar meist molekulardispersen Lösung der Kolloidsubstanz in viel Wasser. Der Kolloidgehalt der dünnflüssigeren Phase entsteht durch eine teilweise feinere Dispersion des Gels. Diese wäßrige Phase hat, wie jede Lösung, das Bestreben, sich unendlich mit Wasser zu verdünnen und zieht das Wasser durch die festen Wabenwände, welche als semipermeable Membran fungieren, so weit an, bis der elastische Gegendruck dieser Wände gleich dem osmotischen Druck der flüssigeren Phase ist. Dieser osmotische Druck hängt nun davon ab, wieviel von der Gelsubstanz in der Zwischenflüssigkeit dispergiert ist. Das Minimum der Dispergierung entspricht dem Flockungsoptimum eines gelösten hydrophilen Kolloids; bei Abwesenheit wesentlicher Salzmengen hängt dieses nur von der

Digitized by Google

h ab und ist gleich dem isoelektrischen Punkt der Gelsubstanz. Bei Anwesenheit von Salzen wird der Dispersitätszustand ähnlich verändert wie der eines gelösten hydrophilen Kolloids. Fein (oder sogar molekular) dispergierbar sind nur Gelatine-Ionen; ungeladene Gelatine ist immer grobdispers.

Steigert man die Azidität einer Gelatinelösung durch allmählichen Zusatz von HCl, so findet man bei sehr niederem HCl-Gehalt ein Quellungsminimum, entsprechend dem isoelektrischen Punkt. Da die hierzu erforderlichen HCl-Mengen sehr klein sind, findet man das Quellungsminimum leichter, wenn man nicht mit HCl, sondern mit Puffern ansäuert. Steigert man den HCl-Zusatz, so ionisiert die Gelatine immer stärker, quillt daher immer stärker, bis schließlich die antagonistische Wirkung der Cl-Ionen die Quellung wieder geringer macht. So giebt es ein Quellungsmaximum bei einer bestimmten HCl-Konzentration.

42. Übung.

Quellungsmaximum und -minimum der Gelatine.

Das Quellungsoptimum der Gelatine bei steigender HCl-Konzentration[1]).

In eine Reihe von 10 Reagenzgläsern fülle man:

Nr.	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
nHCl ccm	16	8	4	—	—	—	—	—	—	—
0,1 nHCl ccm .	—	—	—	20	10	5	2,5	1,25	0,62	0,31
dest. Wasser . .	4	12	16	0	10	15	17,5	18,75	19,38	19,69

Nun schneide man aus einer mindestens 1 mm dicken Gelatineplatte[2]) 10 Streifen von möglichst genau gleicher Länge (etwa 5 cm) und etwa $^1/_2$ cm Breite und bringe in jedes der Röhrchen einen Gelatinestreifen. Nach 24 Stunden beträgt die Länge dieser Streifen (wenn die Gelatineplatten nicht zu dünn waren und nicht in einzelne Stücke zerfallen sind):

Nr. 1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
6,4	6,6	6,7	7,4	8,3	8,3	7,6	7,0	6,1	5,3 cm

Das Optimum der Quellung liegt also bei 0,05 bis 0,025 nHCl-Lösung, d. h. bei $p_h = 1{,}3$ bis 1,6.

---

[1]) In Anlehnung an Chiari, Biochem. Zeitschr. **33**, 167. 1911.

[2]) Außiger Gelatine, Extraqualität; Aktienges. f. chem. Industrie, Außig.

Digitized by Google

Wir lernten oben (S. 80) das Osmometer für kolloidale Stoffe kennen: den Kollodiumsack. Denken wir uns dieses nicht mit einem oben offenen Steigrohr versehen, sondern allseitig verschlossen (zugebunden) und mit Eiweißlösung gefüllt, so wird, je nach dem osmotischen Druck der Eiweißlösung, dieser Sack, wenn er in eiweißfreiem Wasser steht, sich mehr oder weniger durch Wasseranziehung aufblähen. Die Gelatine ist zu denken als ein Konglomerat von unendlich vielen kleinen derartigen Osmometern. Der Quellungszustand der Gelatine ist der sichtbare Ausdruck für den osmotischen Druck der flüssigen Phase der Gelatine, welche in dem festen Gerüst eingeschlossen ist.

Diesem Quellungsoptimum steht gegenüber ein Quellungsminimum, welches beim isoelektrischen Punkt der Gelatine liegt ($p_h = 4{,}7$). Es empfiehlt sich für diesen Versuch, die Quellung der Gelatine durch Wägung zu bestimmen. Gelatinestücke von genau gleichem Gewicht (in unserem Versuch waren es 1,529 g) werden in etwa 100 ccm fassende Präparatengläschen gebracht und diese mit folgenden 5 Lösungen aufgefüllt.

	1	2	3	4	5
$\frac{n}{10}$ Na-Azetat	5	5	5	5	5
$\frac{n}{10}$ Essigsäure	0,31	1,25	5	20	80
Wasser	94,69	93,75	90	75	15

Nach 24 Stunden werden die Gelatinestücke herausgenommen, mit Filtrierpapier abgetrocknet und wieder gewogen. Es fand sich

	1	2	3	4	5
	11,0 g	8,9 g	7,9 g	8,3 g	15,7 g
p_h	5,8	5,2	4,6	4,0	3,4

Die zweite Zeile gibt den aus der Zusammensetzung des Gemisches berechneten p_h. Das Quellungsminimum entspricht also dem isoelektrischen Punkt (4,7).

Die innere Reibung oder Viskosität von hydrophilen Kolloiden.

Die Viskosität einer Flüssigkeit ist der Ausdruck für die mehr oder weniger große Kohäsion zwischen den Teilchen der Flüssigkeit. Ein hydrophiles Kolloid vermehrt die Viskosität des

Digitized by Google

Wassers bedeutend, besonders wenn seine Teilchen stark hydratisiert sind. Dies sind nun besonders die elektrisch geladenen Teilchen. Die Hydratation dieser Teilchen, d. h. die Bindung der umgebenden Wassermoleküle, geht parallel dem Wasserbindungsvermögen, wie es in der Neigung zur spontanen Dispersion oder zur Quellung zum Ausdruck kommt. Das Viskositätsminimum entspricht daher dem Dispersitätsminimum oder dem Quellungsminimum und liegt in sehr salzarmen Lösungen bei variierter h im isoelektrischen Punkt. Gesteigerte Ansäuerung mit HCl führt aus derselben Ursache wie bei der Quellung zu einem Viskositätsmaximum[1]), welches bei weiterer Ansäuerung wieder zurückgeht. Der Einfluß der Elektrolyte auf die Quellung geht dem auf die Dispersität und auf die Quellung parallel: Verminderung der Dispersität, Erhöhung der Quellung, Erhöhung der Viskosität gehen Hand in Hand.

43. Übung.

Bestimmung der inneren Reibung (Viskosität) einer Lösung.

Die innere Reibung einer Flüssigkeit wird am einfachsten mit dem Viskosimeter nach Wilhelm Ostwald bestimmt. Die erhaltenen Werte sind relativ und werden auf die innere Reibung des Wassers = 1 bezogen. Da die Viskosität stark von der Temperatur abhängt, muß die Messung im Wasserbad ausgeführt werden. Das Viskosimeter (s. Fig. 11) muß stets mit der gleichen Menge Flüssigkeit gefüllt werden, welche für jedes Viskosimeter ausprobiert werden muß. Man fülle aus einer Pipette soviel Wasser in das (breitere) Rohr *d* ein, daß die Kugel *c* knapp gefüllt ist. Nun blase man von *d* aus die Flüssigkeit in den andern Schenkel, bis sie die Marke 1 erreicht. Sie muß dann auf der andern Seite noch gerade in die Kugel *c* reichen. Diejenige Flüssigkeitsmenge, die diese Bedingung erfüllt, ist die geeignete. Es sind in der Regel 5 ccm. Das wichtigste ist, daß das einmal gewählte Flüssigkeitsvolumen nunmehr stets inne gehalten wird. Die Zeit wird mit einer Stoppuhr gemessen, die $^1/_5$ Sekunden anzeigt. Sobald das Flüssigkeitsniveau die obere Marke 1 passiert, wird die Uhr angelassen, sobald es die untere Marke 2 passiert, ge-

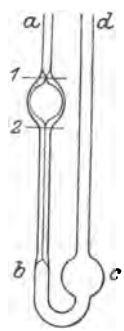


Fig. 11. Viskosimeter. $^1/_6$ nat. Größe.

[1]) Wo. Pauli und R. Wagner, Biochem. Zeitschr. **27**, 299. 1910.

Digitized by Google

stoppt. Dann wird die Flüssigkeit wieder in den andern Schenkel herübergedrückt und die Bestimmung wiederholt, und dies fortgesetzt, bis die Werte konstant werden. Bei Gelatinelösungen muß man das ganz besonders berücksichtigen, weil die Viskosität bei Änderung der Temperatur erst ganz allmählich ihren endgültigen Wert annimmt.

Zunächst wird durch mehrere Versuche der Wert für reines Wasser bei der für den eigentlichen Versuch gewählten Temperatur, 35°, festgestellt.

Als Übungsbeispiel mache man folgende Reihen:

1. Der Einfluß der h auf die Viskosität der Gelatine. Es wird ein Viskosimeter gewählt, welches für reines Wasser eine Ausflußzeit von $^3/_4 - 1$ Minute zeigt, und diese Zeit auf $^1/_5$ Sekunde genau festgestellt.

Man löse 3 g reiner Gelatine in 100 ccm destillierten Wassers unter Erwärmen und häufigem Umrühren. Je 10 ccm dieser noch warmen und leichtflüssigen Lösung werden mit 5 ccm einer gewissen Flüssigkeit verdünnt, und zwar

1. 0,33 nHCl	7. 0,005 nNaOH
2. 0,1 nHCl	8. 0,1 nNaOH
3. 0,02 nHCl	
4. 0,01 nHCl	
5. 0,001 nHCl	
6. destill. Wasser	

Von jeder Lösung wird die Viskosität bei 35° bestimmt, und jeder Versuch so oft wiederholt, bis er konstante Werte gibt (innerhalb $^2/_5 - ^4/_5$ Sekunden). Der Ausfall des Versuchs hängt von der Reinheit der Gelatine ab und ergibt z. B. folgendes:

Eichung mit destilliertem Wasser: 57,0 Sekunden.

Lösung	1.	120 Sekunden.
„	2.	144 „
„	3.	106 „
„	4.	103 „
„	5.	108 „
„	6.	108 „
„	7.	109
„	8.	139,8

Wir finden also ein Minimum der Viskosität in Lösung 4 und ein Maximum in Lösung 2.

Wenn man in allen Lösungen p_H bestimmt (Methode S. 32),

Digitized by Google

so findet man, daß diese Lösung Nr. 4 dem isoelektrischen Punkt der Gelatine ($p_H = 4{,}7$) am nächsten steht. Man findet aber ferner, daß p_H von Nr. 3 bis 6 sich nur wenig ändert, etwa von p_H 5 bis 4. Das liegt daran, daß hier nicht mit einem Regulator, sondern mit reiner HCl gearbeitet wurde, welche in so niederen Konzentrationen zum großen Teil von der Gelatine, und außerdem von etwa in geringfügiger Menge vorhandenen Aschebestandteilen, gebunden wird. Daher ist auch der Unterschied der Viskosität zwischen 4, 5 und 6 so gering. Röhrchen 2 ist viel saurer, p_h etwa 2,5, und Röhrchen 1 etwa $p_h = 1{,}5$.

Auch die Lauge erhöht die Viskosität etwas, aber weniger und ohne Erreichung eines Maximum.

2. Demonstration des Einflusses der Salze auf die Viskosität der Gelatine.

Der Einfluß der Salze auf die Viskosität ist bei isoelektrischer Gelatine sehr gering. Man wählt daher als Grundlösung am besten eine stark saure oder alkalische Lösung.

Man mischt 90,0 ccm 3proz. Gelatinelösung + 1,0 ccm n. HCl, dazu im ersten Versuch 9,0 ccm destilliertes Wasser, in einem zweiten Versuch 9,0 ccm 0,5 mol. NaCl-Lösung, das erste Röhrchen entspricht in seiner Zusammensetzung Nr. 2 der vorigen Versuchsreihe und zeigt eine Ausflußzeit von etwa 140″, das zweite Röhrchen zeigt gegen 105″, fast die gleiche Zeit wie isoelektrische Gelatine.

Bei Gegenwart von größeren Mengen Neutralsalzen ist somit die Viskosität der Gelatine von der h und somit vom Ladungszustand der Gelatine nur wenig abhängig.

Wendet man kleinere Mengen von Neutralsalzen an, so zeigt sich, daß die Wirksamkeit je nach der Natur des Salzes verschieden groß ist.

Man setze folgende Versuche an:

Man mischt 90,0 ccm 3proz. Gelatinelösung mit 1,0 ccm n. HCl und dazu im Versuch

1.	mit	9	ccm	$\frac{\text{mol.}}{20}$	NaCl:	Ausflußzeit	125″
2.	„	9	„	$\frac{\text{mol.}}{40}$	$CaCl_2$	„	125″
3.	„	9	„	$\frac{\text{mol.}}{40}$	Na_2SO_2	„	118″
4.	„	9	„	$\frac{\text{mol.}}{40}$	$AlCl_3$	„	125″
5.	„	9	„	dest. Wasser		„	139″

Digitized by Google

Aus diesen Versuchen können wir folgendes ersehen: Alle Salze vermindern die Viskosität der sauren Gelatine, d. h. nähern sie der Viskosität der isoelektrischen Gelatine. Aber bei gleichen Äquivalentkonzentrationen wirken die Salze verschieden. Die Gelatine hat in dieser sauren Lösung eine positive Ladung. Von Einfluß zeigen sich infolgedessen nur die negativen Ionen. Man sieht, daß das zweiwertige Sulfation in Na_2SO_4 viel stärker wirkt als das einwertige Chlor in NaCl. Die Kationen dagegen sind belanglos. Die drei Chloride NaCl, $CaCl_2$ und $AlCl_3$ sind trotz der verschiedenen Wertigkeit ihrer Kationen von gleicher Wirksamkeit, sobald sie an Chlor äquivalente Konzentrationen haben.

In alkalischer Gelatine würden umgekehrt NaCl und Na_2SO_4 gleich wirksam sein, während $CaCl_2$ stärker wirksam wäre als NaCl.

IX. Die Gallertbildung.

44. Übung.

Erstarrungsoptimum und Trübungsoptimum bei variierter h.

Wir deuten, wie schon S. 87 bei dem Kapitel Quellung auseinandergesetzt wurde, die Gallerte als ein zweiphasiges System, bestehend aus einem kolloidreichen, wasserarmen Wabengerüst und einer wasserreichen Zwischenflüssigkeit, die das Kolloid in geringerer Konzentration und in feinerer oder sogar molekularer Dispersion gelöst enthält. Eine Gallerte unterscheidet sich demnach von einer tropfbar flüssigen Lösung eines hydrophilen Kolloids nur dadurch, daß die kolloidreichere, festere Phase nicht von diskreten Teilchen, sondern aus einem zusammenhängenden Gerüstwerk gebildet wird. Die Erstarrung einer gallertbildenden Flüssigkeit beruht auf dem Verkleben der Teilchen zu einem Gerüst. Alle Einflüsse, welche bei einer einfachen hydrophilen kolloiden Lösung die Vermehrung der dispersen Phase auf Kosten der flüssigeren begünstigen, müssen daher bei einem gallertbildenden Kolloid die Neigung zur Gallertbildung erhöhen. Diese Einflüsse können wieder von Ionen, insbesondere den H-Ionen, ausgeübt werden. Wir beschränken uns darauf, den Einfluß der H-Ionen auf die Gallertbildung zu demonstrieren.

Man vergegenwärtige sich vor allem die anfänglich paradox erscheinende Tatsache, daß in gleich konzentrierten Gelatine-

Digitized by Google

lösungen je nach dem Gehalt an Stoffen, welche einen Einfluß auf den Dispergierungszustand haben, das Minimum der Viskosität mit dem Maximum der Erstarrungsfähigkeit zusammenfällt. Das liegt daran, daß das Minimum der Viskosität[1]) uns den Minimumgehalt der flüssigen Phase an Kolloid anzeigt, das Maximum der Gallertbildung uns das Maximum des Kolloidgehalts der festeren Phase anzeigt. Jenes Minimum und dieses Maximum muß aber identisch sein.

Bei gleichem Gelatinegehalt erstarrt also eine Lösung bei tiefer Temperatur um so schneller, je geringer die Viskosität derselben Lösung im nicht erstarrten Zustand, bei etwas über dem Erstarrungspunkt gelegener Temperatur, ist.

Man setze in sieben Reagenzgläsern folgende Mischungen zusammen:

Röhrchen Nr.	1	2	3	4	5	6	7
$\frac{n}{10}$ Natriumazetat	1	1	1	1	1	1	1
$\frac{n}{10}$ Essigsäure	0	0,06	0,25	1	4	—	—
n. „	—	—	—	—	—	1,6	6,4
n. Natronlauge	0,05	—	—	—	—	—	—
Wasser	6,95	6,94	6,75	6	3	5,4	0,6
p_h ungefähr etwa	8	5,6	5,0	4,6	4,0	3,4	2,8

In jedes Röhrchen gibt man dann 3 ccm einer durch Erwärmen verflüssigten Lösung von 10 g Gelatine + 100 ccm destillierten Wassers, bringt sämtliche Röhrchen für einige Minuten in ein Wasserbad von etwa 50°, dann wenige Minuten in ein Wasserbad von Zimmertemperatur und stellt sie schließlich auf einem Reagenzglasgestell in den Eisschrank. Von Zeit zu Zeit beobachtet man durch Neigen des Gestelles den Eintritt der Erstarrung. Bezeichnen wir als Erstarrungspunkt denjenigen Zeitpunkt, bei welchem beim Neigen kein Fließen mehr eintritt, so findet man je nach der Temperatur z. B. für

Röhrchen	1	2	3	4	5	6	7
Erstarrungszeit in Minuten:	19	17	16	14	19	25	sehr lange

[1]) Wenn sie bei einer so hohen Temperatur gemessen wird, daß kein Gerüst ausgebildet ist.

Digitized by Google

Man kann durch nochmaliges Erwärmen und Wiederabkühlen den Versuch beliebig oft mit denselben Röhrchen wiederholen. Die schnellste Erstarrung tritt in Röhrchen 4 ($p_h = 4{,}6$) ein, welches dem isoelektrischen Punkt der Gelatine (4,7) am meisten entspricht. Nach vollkommener Erstarrung der Gelatine bemerkt man ferner (vielleicht nicht bei jeder Gelatinesorte gleich gut; zu empfehlen die in der 42. Übung genannte Sorte), daß in Röhrchen 4 (dem isoelektrischen Punkt der Gelatine) eine deutliche Opaleszenz wie in einem verdünnten Mastixsol eingetreten ist. In dem rechten und linken Nachbarröhrchen ist allenfalls noch eine Andeutung davon, in den übrigen Röhrchen nichts derartiges zu sehen. Das zeugt von dem großen Lichtbrechungsunterschied der dispersen Phase gegen das Dispersionsmittel, also von der Wasserarmut (geringen Hydratation) der dispersen Phase, und von der Gelatinearmut des Dispersionsmittels, im isoelektrischen Punkt.

X. Elektrophorese und Elektroendosmose.

Ein in Wasser suspendiertes Teilchen hat im allgemeinen eine elektrische Ladung gegen das Wasser. Schwebt das Teilchen im Wasser frei, so wandert es, wenn man eine Potentialdifferenz anlegt[1]), zum entgegengesetzt geladenen Pol. Wird das Teilchen aber mechanisch festgehalten, indem man eine große Menge solcher Teilchen zu einem den Querschnitt der Flüssigkeit versperrenden „Diaphragma" zusammenpreßt, so wandert das Wasser durch die Poren dieses Diaphragma in umgekehrter Richtung.

Die Ladung der Teilchen erklärt man sich aus der Adsorption von Ionen; die adsorbierte Ionenschicht ist die innere Schicht der elektrischen Doppelschicht, die von ihr elektrostatisch gefesselte, aber nicht adsorbierte Schicht der entgegengesetzt geladenen Ionen ist die äußere Lage der Doppelschicht.

Über den Ladungssinn der Teilchen könnte man bis jetzt folgende Erfahrungen mitteilen: Haben die Teilchen chemisch den ausgesprochenen Charakter einer Säure (Kieselsäure, Harzsäuren), Base (Tonerde) oder eines Ampholyten (Eiweiß), so ist der Ladungssinn derselbe, wie er in ionisierter Form zu er-

[1]) Wenn man „einen elektrischen Strom hindurchschickt": maßgeblich ist aber nur der Potentialabfall pro Zentimeter, nicht die Stromstärke.

Digitized by Google

warten wäre: Säuren negativ, Basen positiv, Ampholyte je nach der h positiv oder negativ. Bei Teilchen, bei denen ein solcher Charakter nicht ausgeprägt ist (kolloidale Metallteilchen, Zellulose, Kollodium) findet man in der Regel negative Ladung; nur die Kohle verhält sich wie ein Ampholyt.

Jede negative Ladung wird durch Erhöhung der h in der Lösung und durch dreiwertige Kationen vermindert, oft schließlich umgekehrt. Jede positive Ladung wird durch Erhöhung der oh und durch stark aktive Anionen (Rhodanid usw.) vermindert und unter Umständen umgekehrt. Das häufigere Vorkommen ist die Negativität der Ladung,

Durch $H^{\cdot}$ oder $Al^{\cdot\cdot\cdot}$ nur vermindert, aber niemals umgekehrt wird die negative Ladung bei Zellulose, Agar. Nur durch $Al^{\cdot\cdot\cdot}$, nicht durch $H^{\cdot}$ wird die Ladung umgekehrt bei Kaolin, Goldsol. Sowohl durch $H^{\cdot}$ wie durch $Al^{\cdot\cdot\cdot}$ wird die negative Ladung umgekehrt bei den amphoteren Stoffen, wie Eiweiß, und bei Kohle.

Die eiweißartigen Substanzen gehören alle zu den umladbaren Ampholyten.

45. Übung.

Die elektrische Kataphorese des Hämoglobin[1].

Benutzt wird der nebenstehende Apparat, der nach dem Prinzip von Landsteiner und Pauli unter wesentlicher Modifikation bezüglich der zu- und ableitenden Elektrode konstruiert ist. Die Räume 2 und 4 werden mit der „Seitenflüssigkeit", der Raum 3 mit der „Mittelflüssigkeit" gefüllt. Zuerst sei die Herstellung dieser Flüssigkeiten beschrieben.

1. Herstellung der Mittelflüssigkeit.

5 ccm defibriniertes Blut (vom Hammel, Pferd, Rind, Kaninchen oder Menschen) werden mit 100 ccm 0,85 proz. NaCl-Lösung verdünnt und scharf zentrifugiert. Die NaCl-Lösung wird möglichst vollständig abgegossen und die sedimentierten Blutkörperchen in 100 ccm destillierten Wassers gelöst. Durch die Auswaschung und die Verdünnung soll bewirkt werden, daß die Wirkung des später angefügten $H^{\cdot}$-Regulators durch die eigene Pufferung der Blutflüssigkeit möglichst wenig modifiziert wird. 30 ccm dieser Lösung werden mit 3 ccm m/3 primären Natriumphosphats und 0,6 ccm m/3 sekundären Natriumphosphats (Her-

[1] L. Michaelis u. H. Davidsohn, Biochem. Zeitschr. **41**, 102. 1912.

Digitized by Google

stellung desselben siehe S. 68) versetzt. Zum Schluß löse man etwa 0,5 g Zucker darin auf, um das spezifische Gewicht ein wenig zu erhöhen.

2. Herstellung der Seitenflüssigkeit.

Sie ist genau die gleiche Lösung, aber ohne Blut (und ohne den Zucker). 90 ccm destilliertes Wasser werden mit 9 ccm m/3 primären Natriumphosphats und 1,8 ccm m/3 sekundären Natriumphosphats versetzt.

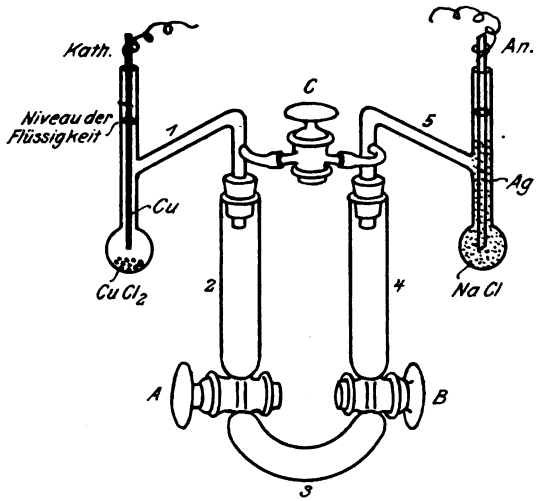


Fig. 10. Apparat für elektrische Kataphorese.
$^3/_{10}$ nat. Größe.

An einer Probe von 10 ccm dieser Lösung mache man zunächst eine Bestimmung von p_H nach der Methode S. 32. Man wird ungefähr finden $p_H = 6$. Anzuwendender Indikator: p-Nitrophenol.

Nun werden die Aufsätze mit ihren Gummistopfen abgenommen, die Glashähne A und B sorgfältig getrocknet und gefettet, und die Mittelflüssigkeit bei geöffneten Hähnen A und B so weit eingefüllt, daß der Raum 3, die Glashahnwege A und B und noch eine kleine Strecke beiderseits darüber gefüllt wird. Man wartet, bis etwa sich bildende Luftbläschen aufgestiegen sind, schließt die Hähne A und B, wäscht die Räume 2 und 4 erst einige Male mit Wasser, dann mit etwas „Seitenflüssigkeit"

Digitized by Google

aus und füllt diese beiden Räume mit Seitenflüssigkeit und befestigt den Apparat provisorisch an einer Stativklammer in der durch die Zeichnung angegebenen Lage. Jetzt werden die „Aufsätze" mit ihren Gummistopfen aufgesetzt, so daß keine Luftblase bleibt. Nun fülle man mit einer 5 oder 10 ccm fassenden Pipette die Aufsätze mit der Seitenflüssigkeit und sorge durch geeignetes Kippen des Apparates dafür, daß nirgendwo eine Luftblase bleibt. Der Flüssigkeitsspiegel muß etwa so hoch stehen, wie in der Zeichnung angegeben. Der Apparat wird jetzt definitiv an dem Stativ befestigt und vorläufig Hahn C geschlossen.

Jetzt werden die Vorrichtungen zur Depolarisation getroffen. In den Aufsatz, der zur Anode werden soll, schüttet man von oben etwa 1 g KCl oder NaCl ein und sorgt durch sanftes Auf- und Abfahren mit einem Draht dafür, daß das Salz nicht ganz am Boden bleibt, sondern daß ein wenig auch in dem oberen Teil des Aufsatzes gelöst wird. Dann fügt man in den anderen Aufsatz etwa 0,2 g $CuCl_2$. Dieses soll ganz auf den Boden fallen. In die mit KCl beschickte Aufsatzöffnung steckt man ein langes Streifchen blankes Silberblech, in die andere einen Kupferdraht, welcher sorgfältig bis auf das blank gelassene unterste Ende paraffiniert ist, damit der Strom nur ganz unten, wo sicher gelöstes Cu-Salz sich befindet, austreten kann. (Die Isolation der käuflichen isolierten Drähte genügt nicht.) Das Silberblech wird mit positiven (Lakmus rötenden), der Kupferdraht mit dem negativen (Lakmus bläuenden) Pol eines Gleichstroms von 110 oder 220 Volt verbunden; dieser Strom bleibt aber vorläufig an irgendeiner Stelle außerhalb des Apparats geöffnet. Eine Glühlampe wird zweckmäßig in den Stromkreis als Sicherung eingeschaltet.

Der Hahn C wird jetzt geöffnet, damit die beiden Flüssigkeitssäulen sich auf gleiches Niveau einstellen. Ist das geschehen, so wird der Hahn wieder geschlossen, ohne sonst die Stellung des Apparates zu verändern. Jetzt werden die Hähne A und B geöffnet. Man überzeuge sich durch mindestens 5 Minuten langes Beobachten, daß 1. die Grenze zwischen der Hämoglobinlösung und der farblosen Lösung beiderseits scharf bleibt und nicht verschoben wird, 2. daß die Hähne A und B nach außen gut schließen und kein Tropfen Wasser durch sie nach außen tropft. Ist das alles besorgt, so wird schließlich der Strom geschlossen. Nach 30 Minuten sieht man, daß die ganze Hämoglobinsäule einige Millimeter zur Kathode verschoben ist: die durchaus scharf bleibende Grenzfläche zwischen roter und farbloser Flüssigkeit fällt auf der Silberblechseite und steigt auf der Kupferdrahtseite.

Digitized by Google

Bildet das Hämoglobin Streifen und Schlieren, so beruht das stets auf nicht elektrisch verursachten Strömungen durch Erschütterungen oder Wärmeströmungen. Der Zusatz des Zuckers zur Mittelflüssigkeit setzt die Empfindlichkeit gegen solche Strömungen bedeutend herab.

Hat man sich von der Wanderungsrichtung genügend überzeugt, so öffne man den Strom, schließe die Hähne A und B, dann C, ziehe die Elektroden heraus und nehme erst den Kupfer-, dann den Silberaufsatz einzeln heraus. Man verschließt dazu mit dem Finger die äußere Öffnung und lüftet dann die Gummistopfen rasch, so daß nichts von dem Inhalt der Aufsätze in die Räume 2 bzw. 4 fließt. Nun entleert man getrennt den Raum 2 und 4 mit einer Pipette, ohne Hämoglobin mitzubekommen, und prüft auf dieselbe Weise wie zu Anfang, ob p_H gleich geblieben ist. Dies muß wenigstens angenähert (innerhalb eines Spielraums von höchstens $\pm$ 0,1) der Fall sein.

(Wenn man die p_H-Messung mit der elektrometrischen Methode ausführt, kann man zu Beginn und zum Schluß des Versuchs nicht nur die Seitenflüssigkeit, sondern auch die gefärbte Mittelflüssigkeit messen.)

Resultat: bei $p_H = 6$ wandert Hämoglobin zur Kathode, oder es ist positiv geladen.

Benutzt man eine Lösung mit $p_H = 8$, so wandert Hämoglobin zur Anode. Dafür würde sich empfehlen:

Mittelflüssigkeit: 30 ccm verdünntes Blut (wie oben, 20—40fach mit destilliertem Wasser verdünnt), + 0,1 ccm m/3 prim. Phosphat + 3,0 ccm m/3 sekund. Phosphat.

Seitenflüssigkeit: 90 ccm destilliertes Wasser + 0,3 ccm m/3 prim. Phosphat + 9,0 ccm m/3 sekund. Phosphat + 0,5 g Zucker. p_H etwas > 8.

Der isoelektrische Punkt, an dem gar keine Wanderung eintritt, liegt bei $p_H = 6{,}8$.

Hat man von dem Versuch S. 50 noch etwas denaturiertes Albumin, so kann man die Versuche auch mit diesem machen. Man sieht hier die trübe Flüssigkeit sich ebenso verschieben wie die Hämoglobinlösung. Geeignete Zusammensetzung der Lösungen

für anodische Wanderung:	Mitte	Seite
norm. Natriumazetat . .	0,5	1,5
0,1 norm. Essigsäure . .	0,5	1,5
verdünntes Eiweiß . . .	30,0	Wasser 90,0

Digitized by Google

für kathodische Wanderung:

0,1 norm. Natriumazetat .	0,2	0,6
norm. Essigsäure	1,0	3,0
verdünntes Eiweiß . . .	30,0	Wasser 90,0.

46. Übung.

Elektrische Kataphorese von roten Blutkörperchen bei Beobachtung im Mikroskop[1]).

Ein Teil defibriniertes Blut wird mit 50 Teilen 0,85proz. NaCl-Lösung verdünnt und hiervon ein großer Tropfen auf einen Objektträger gebracht und mit einem Deckglas bedeckt. Damit das Deckglas nicht zu eng aufliegt, wird es an den vier Ecken durch kleine Deckglassplitter gestützt, besser durch zwei Längsleisten aus einem zerschnittenen Deckglas, die mit Kanadabalsam angekittet sind. Die Bildung einer Kammer von gewisser Tiefe ist durchaus erforderlich. In zu engen Kapillarräumen unter dem ungestützten Deckglas ist die Beobachtung der Bewegungsrichtung oft täuschend. Außer der Bewegung der Blutkörperchen findet nämlich beim Stromschluß an den die Glaswände unmittelbar berührenden Wasserschichten eine Bewegung des Wassers statt, herrührend von der Potentialdifferenz zwischen Glas und Lösung. Dieser Wasserstrom reißt auch korpuskuläre Elemente mit. Er hat in der Regel die entgegengesetzte Richtung wie die eigentliche Kataphoresebewegung, die man in der mittleren Schicht der Kammer sieht. Maßgeblich ist daher nur die Bewegungsrichtung der Blutkörperchen in der mittleren Schicht[2]). Bei so groben Gebilden wie den Blutkörperchen sieht man von der entgegengesetzten Strömung in der obersten und untersten Schicht gewöhnlich nichts; die oberste Schicht enthält keine Blutkörperchen, in der untersten kleben die Blutkörperchen am Glase fest. Bei Bakterienaufschwemmungen dagegen kann man die drei Schichten gut unterscheiden. Der Tropfen soll so groß sein, daß er rechts und links über die Ränder des Deckglases noch weit herausquillt. In diese überragenden Flüssigkeitstropfen wird

---

[1]) In Anlehnung an E. Höber, Pflügers Archiv **101**, 607. 1904 vereinfacht und modifiziert.

[2]) Streng genommen ist es nicht die mittlere Schicht, sondern diejenige Schicht, welche von der Kammerwand die Entfernung $d\left(\frac{1}{2} \pm \frac{1}{\sqrt{12}}\right)$ hat, wo d die Tiefe der Kammer ist. Vgl. v. Smoluchowski in Grätz' Handbuch der Elektrizität, 1912.

Digitized by Google

rechts und links die Elektrode eingetaucht. Diese besteht aus einem passend gebogenen Glasrohr, welches an einem Ende in eine feine Spitze ausgezogen ist. Es ist mit einer Lösung von 10% NaCl oder KCl in 3proz. Agar gefüllt. Das andere Ende dieses Agarrohrs taucht in eine Flasche mit ebenso starker oder gesättigter Salzlösung. In diese Salzlösung tauchen die metallischen Elektroden ein, die mit den Polen eines Gleichstroms von 110 Volt verbunden werden. Die Stromleitung ist durch einen Stromschlüssel vorläufig unterbrochen, der in der Nähe des Mikroskops steht.

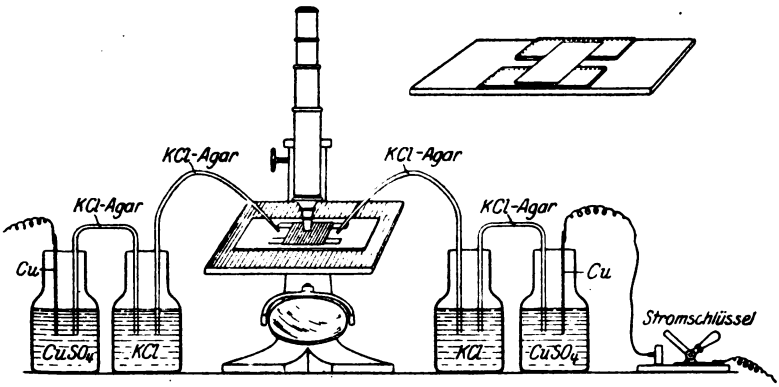


Fig. 13. Elektrische Kataphorese. Rechts oben die mikroskopische Kammer allein.

Für kurzdauernde Einzelversuche kann man als Elektrode einfach Kupferdrähte benutzen. Für länger dauernde Versuchsreihen ist folgende Anordnung zu empfehlen. Der Agarheber taucht wie vorher in die Salzlösung; diese ist durch einen zweiten Glasheber, der wiederum mit KCl-Agar gefüllt ist, mit einer zweiten Flasche verbunden, die mit 10proz. Lösung von $CuSO_4$ gefüllt ist, und in diese erst tauchen die Kupferdrähte.

Man beobachtet im Mikroskop, bis das Strömen der Blutkörperchen aufgehört hat, am besten mit einem Fadenkreuz- oder Mikrometerokular. Jetzt wird der Strom geschlossen. Diejenigen Blutkörperchen, welche sich in der mittleren Tiefe der Kammer befinden, strömen dann energisch zur Anode. Wendet man den Strom, so ändert sich auch die Strömungsrichtung, immer zur Anode hin.

Setzt man zu einer solchen Blutkörperchenaufschwemmung

Digitized by Google

eine Spur Aluminiumchlorid, so ist die Wanderungsrichtung umgekehrt, zur Kathode.

Mit derselben Versuchsanordnung kann man auch Bakterienaufschwemmungen, sowie bei Verwendung eines Ultrakondensors auch kolloide Lösungen (Mastix, Eiweiß usw.) untersuchen.

47. Übung.

Elektrische Endosmose durch eine Tonzelle.

Der Apparat hat folgende Anordnung[1]) (Fig. 14). Die Tonzelle (Pukallfilter) A wird an einem Stativ in dem großen Becherglas B schwebend gehalten. A ist mit dem doppelt durch-

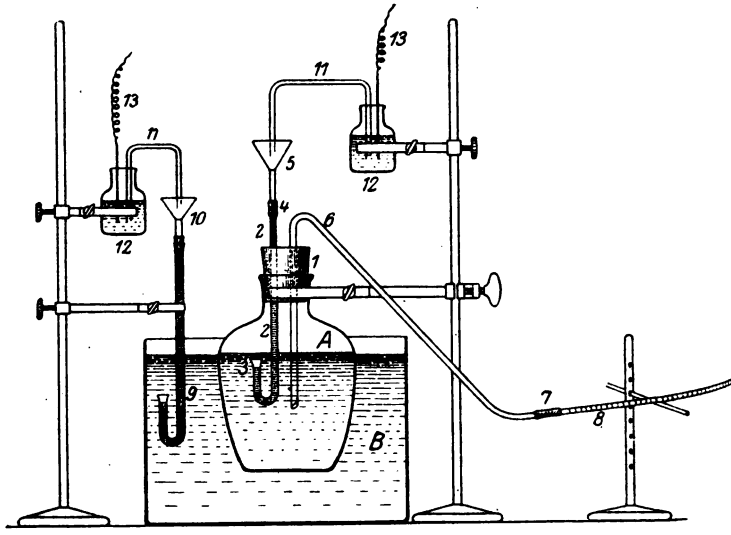


Fig. 14. Elektroendosmose.

bohrten Stopfen 1 verschlossen. Durch die eine Bohrung geht das Glasrohr 2, welches unten umgebogen ist. Es ist mit einer Gallerte von 3proz. Agar in gesättigter KCl-Lösung gefüllt (s. S. 144). Das Ende des aufgebogenen Teiles, 3, ist frei von der Gallerte, um ein Herabsinken der allmählich herausdiffundierenden starken KCl-Lösung zu verhindern. Nach oben setzt

[1]) In Anlehnung an die Versuchsanordnungen älterer Physiker (Wiedemann, Quincke u. a.) modifiziert.

Digitized by Google

sich das Rohr in den Gummischlauch 4 fort, der den Trichter 5 am anderen Ende trägt. Der Schlauch und der Trichter ist mit gesättigter KCl-Lösung gefüllt. A und B werden mit der gleichen Lösung gefüllt, z. B. 1/1000 nKCl-Lösung.

Die andre Bohrung des Stopfens trägt das Glasrohr 6, das vermittels des Gummistücks 7 in das Steigrohr (graduierte 1 ccm-Pipette) 8 übergeht. Indem der Gummistopfen 1 gelüftet wird, saugt man vom Ende der Pipette 6, 7, 8 voll Flüssigkeit und schließt sofort den Stopfen wieder. Anderseits taucht in das große Becherglas das mit KCl-Agar gefüllte Glasrohr 9, von gleichem Bau wie 2; es endet oben vermittels eines Gummistücks in den Trichter 10, der mit gesättigter KCl-Lösung gefüllt ist. In den Trichter 5 und 10 taucht je eine Elektrode von gleicher Beschaffenheit. Sie besteht aus dem mit KCl-Agar gefüllten Glasheber 11, der anderseits in eine mit 10proz. $CuSO_4$-Lösung gefüllte Flasche 12 taucht. In diese ragt der Kupferdraht 13 als Stromzuführung hinein.

Man gebe dem Steigrohr 8 eine ganz schwache Neigung ($5-10^o$), so daß das Flüssigkeitsniveau irgendwo an der Kalibrierung der Pipette steht. Man überzeugt sich, daß das Niveau einerseits sich auf einen festen Stand einstellt, anderseits bei Bewegungen der Pipette frei spielt. Nun schließt man eine elektrische Gleichstromleitung von 110 oder 220 Volt an. Beim Stromschluß tritt eine Bewegung des Wassers ein, und zwar wird es von der Kathode angezogen. Bei Wechsel der Stromrichtung geht es umgekehrt, stets zur Kathode. Die Tonzelle ist also negativ, das Wasser positiv geladen. Man erhält Wasserbewegungen, die als langsames Kriechen des Niveaus leicht erkennbar sind; z. B. in der Minute $0{,}1-0{,}2$ ccm.

48. Übung.

Elektrische Endosmose durch eine Kollodiummembran[1]).

Die Anordnung ist die gleiche, nur ersetzt man die Tonzelle durch eine Kollodiummembran. Sie wird zweckmäßig folgendermaßen hergestellt. Ein zylindrisches Glasgefäß von 15 cm Höhe und 3 cm Durchmesser ist auf dem einen Ende zu einem 3 mm breiten plangeschliffenen Wulst aufgetrieben. Dieser wird auf ein rundes, mit Kollodium bestrichenes Stück Filtrierpapier auf-

[1]) In Anlehnung an Jacques Loeb, Journ. of gener. Physiologie, Bd. 1, 1918, mit einigen Änderungen.

Digitized by Google

gedrückt und dieses an den Rändern umgebogen und an die abgeschrägte Außenwand des Glaswulstes auch noch mit Kollodium aufgeklebt. Das Filtrierpapier wird dann noch außen und innen mit einer dünnen Schicht Kollodium begossen und getrocknet. Man überzeuge sich von der Dichtigkeit des Verschlusses und setze diesen Zylinder an die Stelle des Pukallfilters im vorigen Versuch. Das Resultat ist das gleiche, die Wasserbewegung nur langsamer. Durch eine Kollodiummembran wandert das Wasser unter allen Umständen immer nur nach der Kathode; ist die Lösung (statt 1 : 1000 KCl) eine starke Säure (1/100 nHCl) oder $AlCl_3$, so ist die Wanderung allerdings sehr träge oder hört sogar ganz auf. Niemals tritt eine Umladung ein.

Durchtränkt man eine Kollodiummembran einige Stunden mit 1 proz. Gelatinelösung, so verhält sie sich wie eine Gelatinemembran[1]). Sie hat in saurer Lösung positive (also das Wasser negative), in alkalischer Lösung negative (das Wasser positive) Ladung. $Al\cdots$-Ionen wirken ebenso wie H-Ionen.

Man kann auch pulverförmige Diaphragmen herstellen. Man klebt an den Glaszylinder wiederum ein Stück Filtrierpapier, aber nur an den Rändern, mit Kollodium fest und stützt es außen durch ein Drahtnetz mit umgebogenen Kanten. Das Pulver bringt man, dicht aufgeschwemmt in der zu untersuchenden Lösung, in den Zylinder und wartet die Sedimentierung des Pulvers ab. Als Pulver kann man nehmen: Kaolin (es verhält sich wie die Tonzelle), Eisenhydroxyd, Kohle (verhalten sich wie Gelatine).

Auch kann man eine Membran aus Gelatine oder Agar herstellen, indem man ein Blatt Filtrierpapier an den Glaszylinder mit der flüssigen Gallerte anklebt und eine Schicht der Gallerte auf das Papier gießt. Gelatine verhält sich ebenso, wie die gelatinierte Kollodiummembran, amphoter. Agar ist stets negativ geladen, wie reines Kollodium.

[1]) Jacques Loeb l. c.

Digitized by Google

XI. Adsorption.

49. Übung.

Übersicht über die Typen der Adsorptionsmittel und Adsorbenda[1]).

Es gibt verschiedene Typen von Adsorbentien:

1. Kohle. Sie ist von allen bekannten Adsorbentien das wirksamste und vielseitigste, adsorbiert Elektrolyte und Nichtelektrolyte, saure und basische Farbstoffe, in besonders hohem Maße oberflächenaktive Nichtelektrolyte.

Man verwende „Carbo animalis" Merck. Sie ist nicht ganz frei von Asche. Ihr Feuchtigkeitsgehalt beträgt unter gewöhnlichen Bedingungen gegen 20% und kann für die folgenden Versuche unberücksichtigt bleiben.

2. Unlösliche Pulver von elektrolytartigem Charakter (unlösliche Salze, Säuren, Basen). Sie haben gegen reines Wasser entweder eine negative Ladung (Typus: Kaolin) oder, seltener, eine positive Ladung (Typus: Eisenhydroxyd).

3. Organische („indifferente") Substanzen vom Charakter der Zellulose (Filtrierpapier, Baumwolle, negativ geladen).

4. Organische „amphotere" Substanzen vom Typus des Eiweiß (Seide, Wolle, fixiertes Gewebseiweiß).

Man bereite folgende Lösungen als Adsorbenda:

1. Gesättigte wäßrige Lösung (s. S. 66) von Tributyrin oder Heptyl- oder Oktylalkohol, als Typus eines stark oberflächenaktiven, schwerlöslichen Stoffes.

2. 0,1 n-Essigsäure, als Typus eines sehr schwachen Elektrolyten mit deutlicher, aber nicht exzessiver Oberflächenaktivität.

3. Etwa 0,1 n-Azetonlösung (0,58 proz. Lösung), als Typus eines Nichtelektrolyten von gleicher Oberflächenaktivität wie Essigsäure.

4. Eine 2 proz. Lösung von Traubenzucker als Typus eines nicht oberflächenaktiven (die Oberflächenspannung sogar etwas erhöhenden) Nichtelektrolyten.

5. Eine Lösung von Eosin 1 : 10000 als Typus eines nicht kolloidalen sauren Farbstoffes.

---

[1]) In Anlehnung an die Versuchsanordnungen von H. Freundlich, Zeitschr. f. physik. Chemie und L. Michaelis und Rona, Biochem. Zeitschr., mehrere Arbeiten, Biochem. Zeitschr. 1908, 1919, 1920.

Digitized by Google

6. Eine Lösung von Kongorot 1 : 10000 als Typus eines kolloidalen sauren Farbstoffes.

7. Eine Lösung von Methylenblau 1 : 10000 als Typus eines basischen Farbstoffes.

Man benutzt für jeden Versuch 100 ccm Flüssigkeit, 2 g Kohle bzw. 20 g Kaolin bzw. 20 g Eisenhydroxyd. Eine Probe der Flüssigkeit wird vorher analysiert; das mit dem Adsorbens versetzte Gemisch wird in einer Flasche 3 Minuten geschüttelt, filtriert und das Filtrat nochmals analysiert.

Die Analyse der Essigsäure: durch Titration gegen 0,1 n-Natronlauge (Phenolphthalein). Azeton: jodometrisch. Traubenzucker: polarimetrisch.

Tributyrin (bzw. Heptyl-, Oktylalkohol) stalagmometrisch; Vergleichung der Tropfenzahl vor und nach der Adsorption. Bei den Farbstoffen ist keine Analyse erforderlich.

Man findet für Kohle: Tributyrin (bzw. Heptyl- oder Oktylalkohol) wird von der Kohle völlig adsorbiert. Das Filtrat zeigt die Tropfenzahl des reinen Wassers.

Essigsäure und Azeton werden zu einem deutlich erkennbaren Bruchteil adsorbiert.

Traubenzucker wird sehr wenig, wenn auch nachweisbar adsorbiert. Nimmt man 3—4 mal soviel Kohle, wird die Adsorption deutlicher.

In allen Farblösungen wird der Farbstoff total adsorbiert.

Für Kaolin: Tributyrin (bzw. die genannten Alkohole) werden gar nicht adsorbiert. Azeton wird gar nicht adsorbiert. Traubenzucker wird gar nicht adsorbiert.

Also: Die Oberflächenaktivität eines Stoffes hat gar keinen analytisch nachweisbaren Einfluß darauf, ob er von Kaolin adsorbiert wird.

Eosin wird gar nicht adsorbiert. Dagegen wird Methylenblau und Kongorot adsorbiert.

Also: Basische Farbstoffe werden adsorbiert; saure höchstens dann, wenn sie kolloidal sind.

Für Eisenhydroxyd alles ebenso wie für Kaolin, nur mit dem Unterschied, daß saure Farbstoffe adsorbiert werden, nicht aber basische (Methylenblau).

50. Übung.

Die Verdrängungserscheinungen.

Zwei in Lösung befindliche adsorbierbare Stoffe verdrängen einander von der adsorbierenden Oberfläche. Ist der eine an

Digitized by Google

sich schon schwer adsorbierbar, so kann er durch einen besser adsorbierbaren ganz an der Adsorption gehindert werden.

a) 100 ccm 0,1 n-Essigsäure + 5 ccm Wasser + 2 g Kohle: Filtrat enthält weniger Essigsäure als vorher.

b) 100 ccm 0,1 n-Essigsäure + 5 ccm Azeton + 2 g Kohle: Im Filtrat ist der Essigsäureverlust geringer.

Ferner: a) 100 ccm 2proz. Traubenzuckerlösung + 5 ccm Wasser + 5 g Kohle. Das Filtrat zeigt einen deutlichen Verlust an Zucker.

b) 100 ccm 2proz. Traubenzuckerlösung + 5 ccm Azeton + 5 g Kohle. Das Filtrat hat denselben Zuckergehalt wie vor der Adsorption.

Die beiden Versuche b) stelle man einmal so an, daß zuerst der eine Stoff mit der Kohle in Berührung gebracht, dann der andere, und darauf ein zweites Mal umgekehrt: Das Resultat ist das gleiche. Diese Adsorption ist reversibel, es entsteht ein echtes Gleichgewicht.

51. Übung.

Adsorption der Elektrolyte und der Farbstoffe.

Die Adsorption eines Elektrolyten setzt sich additiv zusammen aus der seiner Ionen. Von allen physiologisch in Betracht kommenden werden die $H^{\cdot}$- und OH'-Ionen am stärksten adsorbiert. Daher wird HCl oder NaOH viel stärker adsorbiert als NaCl.

Man versetze je 100 ccm einer 0,1 molaren Lösung dieser drei Stoffe mit 15 g Kohle. Bei NaCl ist eine Adsorption nur soeben nachweisbar (Cl-Titration), bei HCl und NaOH ist sie fast vollkommen.

Die Adsorption von HCl wird durch die Anwesenheit von NaCl gefördert (Gegenstück des Verdrängungsgesetzes):

100 ccm 0,01 nHCl + 1 g Kohle. Das Filtrat ist etwa 0,006 n an HCl.

100 ccm einer Lösung von 0,01 nHCl + etwa nKCl, d. h. eine Mischung von 1 ccm nHCl und 99 ccm nKCl + 1 g Kohle: das Filtrat ist etwa 0,0045 n an HCl.

Die Adsorption von Filtrierpapier (Zellulose) wird am einfachsten durch die Methode der „Kapillarisation" geprüft. Man taucht 1 cm breite, 20 cm lange Streifen Filtrierpapier in Lösungen (1 ‰) von Methylenblau, Eosin und Kongorot. Methylenblau ist ein basischer Farbstoff. Er wird stark adsorbiert, daher steigt der Farbstoff nicht weit, das in die Höhe gesaugte

Digitized by Google

Wasser ist bald farblos. Eosin ist ein echt gelöster saurer Farbstoff. Er wird schlecht adsorbiert und steigt daher sehr hoch, fast so hoch, wie das Wasser. Kongorot ist zwar auch ein saurer Farbstoff, aber ein kolloider. Er wird wie Methylenblau adsorbiert.

Taucht man den Streifen in eine Lösung von eosinsaurem Methylenblau (einige Tropfen May-Grünwaldsches Farbgemisch in 10 ccm destilliertes Wasser), so trennen sich die Farbstoffe. Das Eosin kriecht weiter als das Methylenblau. Verdünnt man jedoch das Farbgemisch nicht mit Wasser, sondern mit Chloroform, so kriecht das Methylenblau höher als das Eosin.

Man versetze eine 1 proz. wäßrige Lösung von Eosin mit etwas verdünnter Salzsäure und schüttle 10 ccm davon mit 10 ccm Xylol durch. Nachdem das Xylol sich abgesetzt hat, ist es farblos. Taucht man einen Streifen Filtrierpapier in das farblose Xylol, so färbt er sich insensiv rot.

Ein ähnlicher Versuch mit einem basischen Farbstoff:

Eine 1 ‰ige wäßrige Lösung von Nilblau wird mit etwas NaOH versetzt und mit Xylol ausgeschüttelt. Dieses färbt sich bräunlichrot. Taucht man einen Streifen Filtrierpapier oder Wolle in diese rote Lösung, so wird sie augenblicklich tiefblau.

Färbt man einen Blutausstrich auf einem Objektträger (Technik wie in der klinischen Hämatologie!) nach $^1/_4$stündiger Fixation in Alkohol (oder 2 Minuten in Methylalkohol) mit einer dünnen wäßrigen Eosinlösung (1 : 1000; Zusatz einer Spur Essigsäure ist förderlich), so färben sich die roten Blutkörperchen und das Protoplasma der polynukleären Leukocyten. Die Kerne bleiben farblos. Färbt man mit einem basischen Farbstoff (Methylenblau oder Nilblau 1 : 1000), so färben sich am intensivsten die Kerne der polynukleären Leukocyten, bei genügender Verdünnung des Farbstoffs fast diese allein.

Färbt man ein solches Präparat mit der Lösung der Eosinsäure oder der Nilblaubase in Xylol, so erhält man in beiden Fällen eine diffuse Untergrundsfärbung des Eiweißes der Blutflüssigkeit. Die Kerne nehmen nicht einmal spurweise selbst das basische Nilblau an.

Man färbt ein Bakterientrockenpräparat. Eine Platinöse von Kolibazillen wird mit einem Tropfen Wasser auf dem Objektträger ausgestrichen, kalt getrocknet, in der Flamme wie üblich fixiert und mit einer 1 proz. Lösung von Methylenblau einige Minuten gefärbt. Beim Abspülen mit Wasser haftet die Färbung fest. Diese Adsorption ist „irreversibel", d. h. nicht auswaschbar. Wenn man aber mit einer 1 proz. Lösung von Bismarckbraun

Digitized by Google

oder Chrysoidin (beides basische Farbstoffe wie Methylenblau) nachfärbt, wird das Methylenblau extrahiert und an seine Stelle tritt der zweite Farbstoff.

Ein wenig analog ist folgender Versuch. Invertase (Herstellung s. S. 157, vierfach verdünnte Stammlösung) wird mit reichlichen Mengen kolloider Eisenhydroxydlösung (gleiches Volumen 4fach verdünnter Eisenlösung) versetzt. Es entsteht eine dichte Fällung, welche bis zu 100% des Ferments der Lösung entrissen hat. Das Filtrat ist dann wirkungslos auf Sacharose (Beobachtung im Polarisationsapparat). Auch beim Schütteln mit Wasser gibt der Niederschlag kein Ferment ab. Versetzt man aber den Niederschlag mit einer 5proz. Sacharoselösung, so wird diese invertiert. Filtriert man die Lösung nach $^1/_2$stündigem sanften Schütteln ab, so geht die Invertierung im Filtrat immer weiter. Das Ferment ist also durch den Zucker vom Niederschlag abgelöst worden[1]).

Im Falle Methylenblau-Chrysoidin hat sich das Chrysoidin an die Stelle des adsorbierten Methylenblau gesetzt; in dem Falle des Ferments ist die Ablösung durch den Zucker vermittels eines noch ungeklärten Mechanismus erfolgt.

52. Übung.

Die Freundlichsche Adsorptionsisotherme.

Variiert man bei konstantem Volumen der Lösung und konstanter Temperatur die Menge des Adsorbens und des Adsorbendum, so steht nach eingetretenem Adsorptionsgleichgewicht die Konzentration c des noch in Lösung befindlichen Adsorbendum zu der adsorbierten Menge desselben x in dem Verhältnis

$$\frac{x}{m} = k \cdot c^n ,$$

wo m die Gewichtsmenge der Kohle ist. k ist eine Konstante, welche von der zufälligen Beschaffenheit der Kohle abhängt und als ein Maß für ihr Adsorptionsvermögen betrachtet werden kann, wenn man verschiedene Kohlenproben auf dasselbe Adsorbendum wirken läßt. n ist eine Konstante, die von der Art des Adsorbendum abhängt und in der Regel nicht sehr verschieden

---

[1]) A. Eriksson, Z. f. physiol. Chemie **72**, 313. 1911 und O. Meyerhof, Pflügers Archiv **157**, 251. 1914.

Digitized by Google

von 0,5 ist. Als Versuchsobjekt wird Essigsäure oder Azeton empfohlen. Je 100 ccm der Lösung, variierend von 0,3 normal bis 0,002 normal, werden in einer gut verschließbaren Flasche, in welche vorher eine genau abgewogene Menge Kohle von etwa 1 g eingefüllt ist, 5 Minuten geschüttelt, filtriert, der erste Anteil des Filtrats verworfen und von dem übrigen eine ausreichende Menge zur Titration benutzt. Proben der gleichen Lösungen werden ohne Behandlung mit Kohle ebenfalls titriert. Man berechnet die Gesamtmenge des Stoffes, wie sie in 100 ccm ohne Behandlung mit Kohle gewesen wäre, und wie sie nach Maßgabe der Analyse des Filtrats in 100 ccm nach Behandlung mit Kohle anzusetzen ist.

Die Menge drückt man am besten in Millimol aus (1 Millimol Essigsäure ist die Menge, welche 1 ccm n. NaOH entspricht; 1 Millimol Azeton = 0,058 g).

Es fand sich z. B.:

In 100 ccm der Lösung waren ursprünglich Azeton in Millimol	Menge der Kohle in g	Im Filtrat wurden wiedergefunden		Adsorbierte Menge	
		Millimol pro 100 ccm	Konzentration in Normalität	Azeton im ganzen	pro g Kohle
a	m	F	c	a — F = x	$\frac{x}{m}$
0,421	0,8987	0,234	0,0234	0.187	0,208
2,103	1,0320	1.465	0.1465	0,638	0.618
5 257	1.0688	4.103	0,4103	1,154	1,077
10,50	1,0951	8.862	0,8862	1 64	1,498
20.34	1,2425	17.76	1,776	2,58	2,08
30,52	1,2556	26,90	2,690	3,62	2,88

Um k und c zu ermitteln, verfährt man folgendermaßen. Durch Logarithmieren der Gleichung S. 109 erhält man

$$\log \frac{x}{m} = \log k + n \cdot \log c;$$

$\log \frac{x}{m}$ ist also eine lineare Funktion von log c; n ist die Tangente des Neigungswinkels dieser Geraden

$$\log k = \log \frac{x}{m} - n \log c.$$

Ist $c = 1$, so ist $n \log c = 0$, und $\log k = \log \frac{x}{m}$.

Digitized by Google

Wir schreiben zunächst die einander entsprechenden Werte von $\log \frac{x}{m}$ und $\log c$ hin:

$\log \frac{x}{m}$	$\log c$
— 0,682	— 1,631
— 0,209	— 0,834
+ 0,032	— 0,387
+ 0,176	— 0,052
+ 0,318	+ 0,247
+ 0,459	+ 0,430

Tragen wir diese in ein Koordinatensystem ein, so erhalten wir Fig. 15.

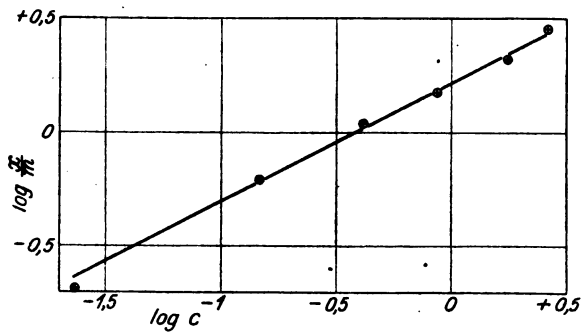


Fig. 15. Adsorptionsisotherme für Azeton.

Aus dem Diagramm ergibt sich durch graphische Ausmessung:

$$n = 0{,}52; \quad \log k = 0{,}125, \text{ also } k = 1{,}33.$$

k ist von der Wahl der Maßeinheiten abhängig; definiert man z. B. nicht, wie hier geschehen, die Konzentration in Mol/Liter, sondern etwa als Millimol pro 100 ccm, so wird k ganz anders. Dagegen ist n von der Wahl der Maßeinheiten unabhängig. Die gezogene Gerade ist durch geradlinige Interpolation nach Augenmaß gezogen, wobei der unterste Punkt nicht berücksichtigt wurde. Er weicht recht merklich von der Geraden ab. Das ist kein Versuchsfehler, sondern der Ausdruck dafür, daß die Freundlichsche Adsorptionsisotherme nur eine für ein gewisses Bereich annähernd gültige Interpolationsformel ist.

Digitized by Google

53. Übung.

Die Oxydation der Oxalsäure an der Oberfläche der Kohle[1]).

Die Geschwindigkeit mancher chemischer Reaktionen wird beträchtlich gesteigert, wenn die aufeinander reagierenden Stoffe sich im verdichteten Zustande an einer adsorbierenden Oberfläche befinden. Die Oberfläche wirkt dann als Katalysator. Dies ist physiologisch deshalb von Bedeutung, weil es eine Gruppe von Fermenten gibt, deren katalytische Wirksamkeit auf diesem Prinzip zu beruhen scheint. Dies ist nach O. Warburg für das Ferment der Atmung der Fall, dessen Wirksamkeit an die Struktur der Zelle gebunden ist und mit zunehmender Dispersitätsvergröberung der Zellsubstanz abnimmt, welche ferner durch Zusatz von oberflächenaktiven Stoffen, die die reagierenden Stoffe von den Grenzflächen verdrängen, gehemmt wird. Ein Modell für das Atmungsferment ist die Kohle. An ihrer Oberfläche werden manche Substanzen, die sonst durch Luftsauerstoff bei mittlerer Temperatur nicht angegriffen werden, durch diesen oxydiert, wie z. B. Oxalsäure, Aminosäuren.

Die Oxydation der Oxalsäure kann man in qualitativer Weise durch folgende Versuchsanordnung demonstrieren: Von einem Glas-T-stück wird das eine Ende mit der Wasserstrahlpumpe verbunden, das zweite Ende mit einem Gummischlauch überzogen, den man zur Regulierung der Saugwirkung durch eine Klemmschraube mehr oder weniger zuklemmen kann, und das dritte Ende mit einem System von hintereinander geschalteten Flaschen, von denen wir die von der Wasserstrahlpumpe entfernteste als Nr. 1 bezeichnen wollen. Nr. 1 ist ein Natronkalkturm wie S. 25, Nr. 2 und 3 sind je eine Gaswaschflasche mit einer hohen Schicht starker NaOH gefüllt; Nr. 4 ist eine Gaswaschflasche mit Barytlauge; Nr. 5 ist das eigentliche Reaktionsgefäß, es ist eine Gaswaschflasche, welche mit einer Aufschwemmung von 5 g Kohle (Mercksche Blutkohle) in 100 ccm destilliertem Wasser gefüllt wird. Diese Aufschwemmung wird vorher zur Austreibung adsorbierter CO_2 15 Minuten ausgekocht und dann noch warm in die Gaswaschflasche eingefüllt. Diese Flasche wird in eine Schale mit heißem Wasser gestellt. Nr. 6 ist wieder eine Gaswaschflasche mit Barytlauge. Sie wird mit der Wasserstrahlpumpe verbunden. Durch Abklemmung der Klemmschraube an dem T-stück sowie durch eine ähnliche Regulation, die sich vor

[1]) In Anlehnung an O. Warburg, Pflügers Archiv **155**, 547. 1914.

Digitized by Google

dem Natronkalkturm befindet, wird der Luftstrom so reguliert, daß mit mäßiger Geschwindigkeit Blase für Blase aufsteigt. Nr. 1 bis 3 dient dazu, die CO_2 der Luft zu absorbieren. Die Barytflasche Nr. 4 ist ein Indikator dafür, daß die Absorption vollkommen ist. Die Barytflasche Nr. 6 soll anzeigen, daß die Kohle frei von CO_2 ist. Dies ist zu Anfang des Versuchs noch nicht der Fall. Die Kohle enthält selbst noch CO_2 oder organische Stoffe, welche bei der katalytischen Verbrennung an der Kohlenoberfläche CO_2 liefern. Wenn man sich überzeugt hat, daß die Barytvorlage Nr. 6 sich trübt, leitet man längere Zeit (1 Stunde) Luft durch das Flaschensystem; die Barytvorlage Nr. 6 kann man dabei ausschalten; das Reaktionsgefäß mit der Kohle, Nr. 5, bleibt dauernd in warmem Wasser stehen. Dann schaltet man eine frisch gefüllte Barytvorlage als Nr. 6 wieder ein und überzeugt sich, daß sie klar bleibt, wenn weiterhin 5—10 Minuten Luft durchgeleitet wird. Ist das der Fall, so gibt man in das Reaktionsgefäß Nr. 5 jetzt 2 g Oxalsäure, schließt sofort wieder und stellt es wieder in das warme Wasserbad (40—50°). Leitet man weiter Luft durch, so trübt sich in 10—15 Minuten die Barytvorlage stark: die Oxalsäure wird verbrannt oder „veratmet".

XII. Einfluß der h auf die Fermentwirkung.

In ähnlicher Weise wie auf die Farbe molekulardisperser Indikatoren (als Typus einer Reaktion im molekulardispersen Zustand), wie ferner auf den Zustand von Kolloiden, haben von allen physiologisch in Betracht kommenden Ionenarten die H-Ionen einen so überwiegenden Einfluß auch auf die Fermentwirkung, daß die Wirkung der anderen Ionenarten gewissermaßen als ein Korrektionsglied betrachtet werden kann. Es gibt auch Ausnahmen: Die Wirkung der Speicheldiastase ist in hohem Maße auch von der Cl′-Konzentration abhängig. Betrachtet man aber die Cl′-Verbindung der Diastase als das eigentliche Ferment, so fügt sie sich dem obigen Gesetz ein.

Die Deutung der H-Wirkung ist in doppelter Weise möglich: entweder man schreibt der h einen Einfluß auf die als Elektrolyte betrachteten Fermente zu, oder man schreibt der h einen Einfluß auf den kolloidalen Zustand der als Kolloide betrachteten Fermente zu. Beides ist möglich, beide Fälle sind durch Übergänge miteinander verbunden und keine prinzipiellen Gegensätze;

Digitized by Google

Fälle von ganz oder nahezu molekulardispersen Fermenten (Invertase) sind wohl ebenso gesichert wie Fälle von hochkolloidalen Fermenten (Zymase, Atmungsferment).

54. Übung.

Der Einfluß der h auf die Wirkung der Speicheldiastase[1]).

Die Wirksamkeit der Speicheldiastase auf Stärke hängt in besonders hohem Maße von der Konzentration der Cl-Ionen und der H-Ionen ab. Ohne Cl (bzw. einige andere ähnliche Ionenarten wie Br) wirkt die Diastase überhaupt nicht. Mit steigender Cl-Konzentration erreicht die Wirkung bald ein Maximum, welches bei weiterer Steigerung des Cl-Gehalts nicht überschritten wird. Ein Gehalt von einigen Promille Cl reicht schon zur Entfaltung der maximalen Wirkung aus. Mit den H-Ionen ist es anders. Bei einer bestimmten h besteht ein Optimum der Wirkung, welches sowohl bei Über- wie Unterschreitung desselben verschlechtert wird. Wir werden im folgenden Versuch einen reichlich bemessenen, konstanten Cl-Gehalt wählen und die h variieren, um die optimale h zu suchen.

Man kocht 2,5 g „lösliche Stärke" in 500 ccm 0,3 proz. NaCl-Lösung auf und füllt in 7 Erlenmeyerkolben je 50 ccm davon ein. Außerdem gebe man von den S. 68 beschriebenen Phosphatlösungen dazu:

	Nr. 1	2	3	4	5	6	7
$\frac{m}{3}$ prim. Phosphat .	4,7	4,4	3,3	2,5	1,7	0,6	0,3
$\frac{m}{3}$ sekund. Phosphat	0,3	0,6	1,7	2,5	3,3	4,4	4,7

Nun füllt man etwa 30 Reagenzgläser mit je 5 ccm einer äußerst stark verdünnten, ganz schwach hellgelben Lugolschen Lösung (etwa $^1/_{1000}$ normal Jodlösung) und hält diese für die weiteren Untersuchungen in Bereitschaft. In die 7 Erlenmeyerkolben gibt man in Abständen von genau 2 Minuten der Reihe nach je 5 ccm eines 100 bis 1000fach verdünnten Speichels. Dann entnimmt man aus dem Kölbchen Nr. 4 alle paar Minuten

[1]) In Anlehnung an W. E. Ringer, Zeitschr. f. physiol. Chemie 67, 332 (1910), L. Michaelis und H. Pechstein, Biochem. Zeitschr. 59, 77. 1914.

Digitized by Google

5 ccm und gibt sie in ein Jodröhrchen. Zunächst wird eine blaue Farbe entstehen, weiterhin eine violette, dann rot. Wenn die Farbe rotviolett bis fast rot geworden ist, beginnt die eigentliche Reihenentnahme. Man entnimmt den 7 Kölbchen der Reihe nach in Abständen von 2 Minuten je 5 ccm und gibt sie in ein Jodröhrchen. Das Resultat wird z. B. sein:

1	2	3	4	5	6	7
blau	violett	rot	gelbrot	rot	rotviolett	violett

Die Wirkung ist also am weitesten fortgeschritten in Nr. 4. Nun bestimmt man mit der Methode S. 32 das p_h der in dem Erlenmeyerkolben übrig gebliebenen Lösung. Man wird finden p_h etwa $= 6{,}8$.

55. Übung.

Das Wirkungsoptimum des Pepsin[1]).

Die Wirkung des Pepsins hängt so überwiegend von der h ab, daß die Wirkung der anderen Ionenarten dagegen fast verschwindend gering ist. Dies gilt ganz besonders, wenn das zu verdauende Eiweiß in gelöster Form, nicht als feste oder koagulierte Eiweißstücke zugegen ist.

2 g Edestin werden 24 Stunden bei 37° mit 50 ccm 0,1 nNaOH behandelt, dann mit Wasser auf 490 ccm und schließlich mit nHCl auf 500 ccm aufgefüllt. Dies ist dann eine 0,4 proz. Edestinlösung in 0,01 nHCl + 0,01 nNaCl. Diese Lösung ist im folgenden als „Edestinlösung" bezeichnet.

Eine 0,5 proz. Lösung von „Pepsin Grübler" in Wasser wird als „Pepsinlösung" bezeichnet. Man stelle nun eine Mischung von je 6 ccm Edestinlösung, 0,4 ccm nHCl, 3,6 ccm Wasser und 0,5 ccm Pepsinlösung in 5—6 Reagenzgläschen in gleichmäßiger Weise an, lasse sie bei Zimmertemperatur und unterbreche in Abständen von einigen Minuten die Verdauung der Reihe nach durch Zusatz von reichlich Natriumazetat in Substanz. Das unverdaute Edestin fällt dadurch aus. Man probiert auf diese Weise aus, wieviel Minuten man braucht, um das Edestin zu einem bedeutenden Teil, aber noch nicht völlig, zu verdauen. Hat man diese Zeit ungefähr bestimmt, so stelle man folgende Reihe an:

[1]) L. Michaelis und A. Mendelssohn, Biochem. Zeitschr. 65, 1. 1914.

Digitized by Google

	Nr. 1	2	3	4	5	6
Edestinlösung ccm	6	6	6	6	6	6
nHCl ccm	0	0,2	0,4	0,8	1,6	3,2
destilliertes Wasser ccm . .	4	3,8	3,6	3,2	2,4	0,8
Pepsinlösung ccm	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5

Nach Ablauf der im Vorversuch ermittelten Zeit unterbreche man in allen Röhrchen die Verdauung durch Zusatz von festem Natriumazetat und stelle fest, wo die Verdauung am weitesten vorgeschritten ist. Dies wird z. B. Nr. 2 sein. Die p_h-Messung wird am besten elektrometrisch gemacht, indem man ein Röhrchen der gleichen Zusammensetzung herstellt und, ohne Zusatz von Natriumazetat, zur p_h-Messung benutzt. Man wird als Optimum p_h = etwa 1,7 finden.

56. Übung.

Das Wirkungsoptimum der Katalase[1]).

Eine stark wirksame Katalasewirkung erhält man folgendermaßen[2]). 50 g Kalbsleber werden mit Sand und Kieselguhr im Mörser verrieben und mit 30 ccm 93 proz. Alkohol verrührt. Nach einer Viertelstunde wird der Brei in einer Presse gut ausgepreßt und der Preßsaft verworfen. Nun preßt man zweimal hintereinander mit 30 ccm Wasser aus, nachdem dieses vor dem Pressen mit dem Preßkuchen jedesmal gut verrührt worden ist. Diese beiden wäßrigen Preßsäfte vereinigt man; sie sind die Urlösung der Katalase. Die Lösung ist sehr lange haltbar, wenn sie mit etwas Toluol versetzt wird. Ein etwa allmählich sich abscheidender Niederschlag wird vor dem Versuch abfiltriert. Von dieser Urlösung braucht man für den Versuch eine Verdünnung von 1 : 50 000 in destilliertem Wasser (etwa 1 Liter). Ferner braucht man etwa 1 Liter Wasserstoffsuperoxyd (Perhydrol Merck) in der Verdünnung 1 : 1000.

Man setzt nun in einer Reihe von Erlenmeyerkolben folgende Mischungen an:

	Nr. 2	3	4	5	6	7
0,1 n Natriumazetat ccm .	2	2	2	2	2	2
0,1 n Essigsäure	0	0,12	0,5	2	—	—
1 n Essigsäure	—	—	—	—	0,8	3,2
destilliertes Wasser. . . .	3,2	3,08	2,7	1,2	2,4	0

[1]) L. Michaelis und H. Pechstein, Biochem. Zeitschr. **53**, 320. 1913.
[2]) S. P. L. Sörensen, Biochem. Zeitschr. **21**, 131. 1909.

Digitized by Google

Ein weiterer Erlenmeyerkolben wird mit 1 ccm m/15 sekundärem Natriumphosphat (s. S. 26) + 4,2 ccm destilliertem Wasser versetzt und als 1. Röhrchen vor die anderen gestellt. Nun füllt man in jedes der 7 Röhrchen je 100 ccm der H_2O_2-Lösung ein, und dann in Abständen von je 2 Minuten je 50 ccm der Fermentverdünnung. Von Nr. 2 entnimmt man alle 5 Minuten eine Probe von 10 ccm, mischt sie mit etwa 5 ccm verdünnter Schwefelsäure und titriert sie mit $^1/_{20}$ n. Kaliumpermanganatlösung. Zu Anfang wird man etwa 3 ccm Permanagnat verbrauchen, nach 10—20 Minuten nur noch die Hälfte. Ist so ein guter Fortschritt der Wirkung erkennbar geworden, so entnimmt man allen Kolben der Reihe nach in Abständen von 2 Minuten 25 ccm, gibt sie sofort in ein Gefäß, welches 10 ccm verdünnte Schwefelsäure enthält und titriert mit Permanganat. Nach dem Zusatz der Schwefelsäure braucht die Titration nicht gleich zu erfolgen. Man beende erst in Ruhe alle Entnahmen. Man wird finden, daß die einzelnen Kölbchen weniger Permanganat verbrauchen als dem Anfangswert entspricht. Der Umsatz ist am größten und untereinander fast gleich von Nr. 1 bis 3, dann wird er kleiner, und in Nr. 7 verbraucht man fast die Anfangsmenge des Permanganat. Das Optimum ist also sehr breit und erstreckt sich von stark alkalischer Reaktion (p_h fast = 9) bis p_h = 5,5. Nach der alkalischen Seite wird es bei dieser Versuchsordnung noch nicht einmal überschritten, wohl aber nach der sauren Seite. Die Messung der h kann in den übrig gebliebenen Proben kolorimetrisch geschehen; man wartet damit am besten, bis alles H_2O_2 zerstört ist.

XIII. Messung der elektrischen Leitfähigkeit einer Lösung.

57. Übung.

1. Schema des Apparates in der Anordnung nach Kohlrausch (Fig. 16). *A* ist ein Akkumulator (am geeignetsten von 4 Volt), dessen Pole über das kleine Induktorium *I* und einen regulierbaren Vorschaltwiderstand (bis etwa 30 Ohm) vermittelst eines Stromschlüssels geschlossen werden können. Der Vorschaltwiderstand wird derart eingestellt, daß gerade eben noch das Induktorium mit dem Wagnerschen Hammer in Betrieb gehalten werden kann; je schwächer der Strom, desto besser. Die Klemmschraubenpole des Sekundärstroms werden wie in

Digitized by Google

der Zeichnung geschaltet. R ist ein Rheostat von mindestens 1 bis 1000 Ohm (für schlecht leitende Flüssigkeiten braucht man bis 10000 Ohm), W ist der zu messende Widerstand in dem Widerstandsgefäß, das noch genauer weiter unten beschrieben wird. $a\,b$ ist ein dünner, auf einem in Millimeter geteilten Maßstab von 1 m Länge ausgestreckter Draht aus Platin-Iridium oder aus Konstantan, d ist ein Gleitkontakt, T ein Telephon. Das Induktorium wird von einem Kasten überdeckt, damit sein Ton nicht direkt hörbar ist.

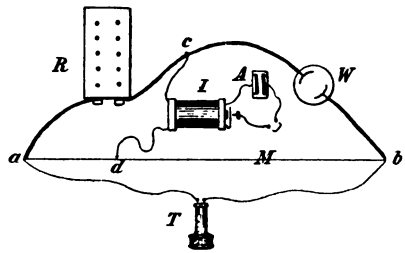


Fig. 16. Schema des Apparates zur Messung der Leitfähigkeit.

Wenn sich der Widerstand $a\,d$ zu dem Widerstand $d\,b$ verhält wie $R : W$, ist zwischen den Punkten a und b kein Potentialunterschied, und das Telephon schweigt. Die Messung des unbekannten Widerstandes W besteht also darin, daß man diejenige Stellung des Schleifkontaktes d ausprobiert, bei der das Telephon schweigt oder wenigstens ein Tonminimum ist.

Den Widerstand R kann man beliebig wählen; am vorteilhaftesten so, daß der Schleifkontakt nicht zu weit von der Mitte des Meßdrahtes entfernt ist, wenn das Telephon schweigt; dann sind die Fehlerquellen der Messung am kleinsten.

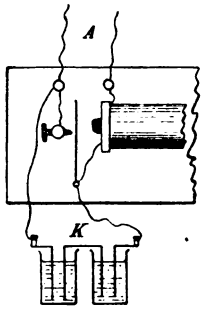


Fig. 17. Schaltung des Kondensators K als Funkentöter.

Es wird ein geprüfter Rheostat und ein gut geprüfter (evtl. mit nötigen Korrekturangaben versehener) Meßdraht als gegeben vorausgesetzt. (Siehe hierüber Ostwald-Luther, Physikochemische Messungen.)

Sehr vorteilhaft ist es, einen „Funkentöter" an das Induktorium zu schalten. Dieser besteht aus einem Kondensator von $^1/_2$ Mikrofarad in der Schaltung der Fig. 17 (K).

Das Aufsuchen des Tonminimum geschieht, indem man, das Telephon am Ohr, den Gleitkontakt in pendelnder Bewegung um den Ort des Tonminimums auf- und abschiebt, die Exkursionen immer mehr einengt und so das Minimum auf möglichst weniger als 1 mm genau ermittelt. Die Güte des Tonminimum ist u. a. um so schärfer, je größer die Elektrodenfläche im

Digitized by Google

„Widerstandsgefäß", aber auch, je größer der Widerstand (bis zu einer gewissen Grenze) in demselben ist. Zur Erhöhung der Oberfläche der Elektroden werden diese mit Platinschwarz überzogen.

2. Das Widerstandsgefäß hat für physiologische Zwecke am besten die nebenstehende Form von Arrhenius. Die Elektroden bestehen aus zwei starken, nicht biegsamen Platinblechen, die in starrer, unbeweglich fester Lage vermittelst starker kurzer Platindrähte an Glasröhren angeschmolzen sind. Die Platindrähte durchbohren das Glasrohr, innen werden sie vermittelst eines Quecksilberkontakts und eingesteckter Kupferdrähte in den Stromkreis angeschlossen. Die Platinplatten werden zunächst mit konzentrierter H_2SO_4 + Bichromat gereinigt, gewässert und dann mit Platinschwarz überzogen. Dies geschieht, indem man in das Gefäß die Platinierungsflüssigkeit nach Lummer (1 g Platinchlorid + 0,02 g Bleiazetat auf 100 g Wasser) füllt und den Strom eines zweizelligen Akkumulators (4 Volt) unter zeitweiliger Wendung des Stromes 10—15 Minuten hindurchschickt. Die Platinplatten müssen samtschwarz sein; bei Elektroden, die schon wiederholt platiniert worden sind, genügen 1—2 Minuten. Dann werden die Elektroden mit Wasser gewaschen und die letzten hartnäckig haftenden Reste des Platinsalzes dadurch reduziert, daß man das Gefäß mit verdünnter H_2SO_4 füllt und wieder unter wiederholter Wendung den Strom hindurchschickt. Zum Schluß werden die Elektroden mehrere Stunden in destilliertem Wasser gewaschen, welches häufig gewechselt wird.

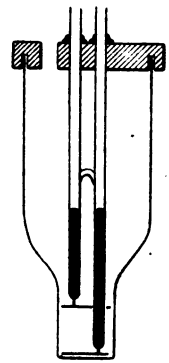


Fig. 18. Widerstandsgefäß.

Da die Leitfähigkeit stark von der Temperatur abhängig ist, muß das Leitfähigkeitsgefäß in einem Wasserbad mit genau regulierter Temperatur stehen.

3. Man beginnt die Untersuchung damit, daß man den Widerstand einer sehr genau hergestellten 0,1 n. KCl-Lösung mißt. Das KCl (pro analysi, Kahlbaum) wird vor der Abwägung schwach geglüht und nach dem Erkalten im Exsikkator gewogen. 7,44 g werden auf 1 Liter ausgekochtes und wieder abgekühltes Wasser (besser noch in Leitfähigkeitswasser, s. unten) gelöst. Findet man den Widerstand = W Ohm, so nennt man $\frac{1}{W}$ die Leitfähigkeit der KCl-Lösung in diesem Widerstandsgefäß. Die Leitfähigkeit muß aber bezogen werden auf ein Leitfähigkeits-

Digitized by Google

gefäß von 1 qcm großen Elektroden im Abstand von 1 cm; dies ist die spezifische Leitfähigkeit der Lösung, K. Die (bekannte) spezifische Leitfähigkeit dieser 0,1 n. KCl-Lösung beträgt bei 18° 0,01119; bei 19° 0,01143; bei 25° 0,01288; bei 35° 0,01539. Findet man nun in dem benutzten Gefäß bei 18° eine Leitfähigkeit $\frac{1}{W}$, so muß man diese mit $0{,}01119 \cdot W$ multiplizieren, damit 0,01119 herauskommt. Mit diesem Faktor $0{,}01119 \cdot W$ muß man dann jede Leitfähigkeitsmessung, die mit diesem Gefäß gemacht wird, multiplizieren, um die „spezifische" Leitfähigkeit zu erhalten. Der Faktor $0{,}01119 \cdot W = C$ nennt man die Kapazität des Gefäßes. W ist, wie ersichtlich, der Widerstand der 0,1 n. KCl-Lösung in dem Gefäß, gemessen in Ohm. So wird die Kapazität des Gefäßes geeicht, und diese Eichung öfters wiederholt, besonders nach einer Platinierung. Findet man z. B. $W = 50$ Ohm, so ist die Kapazität des Gefäßes $C = 50 \cdot 0{,}01119 = 0{,}5595$. Mißt man dann eine unbekannte Lösung und findet ihren Widerstand z. B. = 60 Ohm, so ist die Leitfähigkeit dieser Lösung in diesem Gefäß $= \frac{1}{60}$, also die spezifische Leitfähigkeit $K = \frac{1}{60} \cdot 0{,}5595 = 0{,}00933$.

Ist die zu untersuchende Flüssigkeit die Lösung eines einheitlichen reinen chemischen Stoffes von der molaren Konzentration c, so nennt man $\frac{K}{c}$ die molare Leitfähigkeit λ.

Hat die zu untersuchende Lösung eine sehr geringe spezifische Leitfähigkeit (etwa $< 0{,}001$), so genügt zur Reinigung des Lösungswassers nicht das Austreiben der CO_2 durch Kochen; auch die Leitfähigkeit der sonstigen Verunreinigungen fällt dann störend ins Gewicht. Man benutzt „Leitfähigkeitswasser". Man benutzt für schlecht leitende Lösungen ferner nicht platinierte, sondern blanke Platinelektroden.

Die spezifische Leitfähigkeit des reinsten bekannten Wassers ist $= 0{,}4 \cdot 10^{-7}$. Zweimal destilliertes, in Silberkühlern aufgefangenes Wasser hat eine Leitfähigkeit meist nicht größer als $2 \cdot 10^{-6}$, was für die meisten Zwecke ausreichend rein ist. Gewöhnliches destilliertes Wasser hat je nach seinem CO_2-Gehalt Leitfähigkeiten um 10^{-5}. Leitfähigkeitswasser kann in paraffinierten Glasballons von Kahlbaum bezogen werden. Bei der Entnahme muß es vor der CO_2 der Luft gehütet werden.

Für Übungen in der Messung der Leitfähigkeit von Blut, Harn u. dgl. werden diese Angaben genügen. Für andere Zwecke siehe Ostwald-Luther, Physiko-chemische Messungen.

Digitized by Google

XIV. Messung elektromotorischer Kräfte.

Die Messung elektromotorischer Kräfte hat sich als eine Methode von unabsehbarer Fruchtbarkeit für die Biochemie erwiesen. Sie übertrifft die Leitfähigkeitsmessungen an Vielseitigkeit der Verwendungsmöglichkeit und an Eindeutigkeit der Befunde bei weitem. Sie ist die Grundlage für die Messung der h; alle anderen Methoden der h-Messung müssen durch diese geeicht werden. Ihr Anwendungsgebiet erweitert sich ständig.

58. Übung.

Herstellung eines Normalelements[1]).

Das gebräuchlichste Normalelement ist das Kadmium-Normalelement. Das Gefäß dieses Elements (Fig. 19) hat eine H-förmige Form und ist mit zwei eingeschmolzenen Platindrähten versehen, die zu den Klemmschrauben führen. Man braucht zu seiner Füllung folgende Reagenzien:

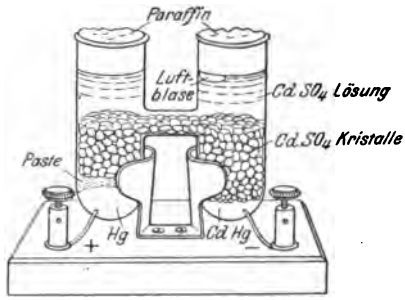


Fig. 19. Normalelement.

1. Reines Quecksilber. Dasselbe kann aus käuflichem, reinen, destillierten Quecksilber folgendermaßen bereitet werden. In einer 50 ccm fassenden Flasche werden 20 ccm Quecksilber mit 20 ccm einer etwa 1 proz. Lösung von Merkuronitrat (nicht Merkurinitrat) und einigen Tropfen Salpetersäure $^1/_2$ Stunde lang heftig geschüttelt, die Lösung vom Hg abgegossen, das Quecksilber mit dest. Wasser gewaschen und diese Prozedur noch einmal wiederholt. Nachdem das Hg gründlich mit destilliertem Wasser gewaschen ist, wird der Inhalt der ganzen Flasche in eine Porzellanschale gegossen, das Wasser abgegossen und der Rest mit Bäuschen von Filtrierpapier aufgesaugt. Will man das Hg noch filtrieren, so geschieht das durch ein Filter, in dessen Spitze mit einer Glasnadel einige feine Löcher gebohrt sind.

[1]) Im wesentlichen nach Ostwald-Luther, Physiko-chemische Messungen.

Digitized by Google

2. Reines Kadmium. Man bestelle es gleich in Stücken von 1—2 g, da es sich sehr schwer zerschlagen läßt. Das reinste Kadmium von Kahlbaum war bisher immer brauchbar (d. h. absolut Zn-frei). Über die Reinheitsprüfung des Kadmium siehe Ostwald-Luther, Physiko-chemische Messungen.

3. Reines Kadmiumsulfat und eine gesättigte Lösung desselben, etwa 50 ccm. Diese Lösung wird einen Tag vorher angesetzt, da die Sättigung nur langsam erfolgt.

4. Merkurosulfat (nicht Merkurisulfat). Es wird von allen löslichen Hg-Salzen dadurch befreit, daß man es in einem Bechergläschen mit einigen Kubikzentimetern der Kadmiumsulfatlösung einige Minuten wäscht, dekantiert und dies dreimal wiederholt. Zum Schluß wird die Lösung, soweit es geht, abgegossen und verworfen.

Gleichzeitig bereite man Kadmiumamalgam. Ein abgewogenes Stück Kadmium (etwa 2 g) wird mit der 6- bis 8fachen Gewichtsmenge des reinen Quecksilbers in einer Porzellanschale zusammengeschmolzen, ein wenig gekühlt und noch flüssig in den einen Schenkel des H-Gefäßes soweit eingefüllt, daß der eingeschmolzene Platindraht sehr reichlich bedeckt ist. Das Amalgam erstarrt bald. Diesen Pol des Elements markiere man sofort als den negativen.

In den anderen Schenkel wird ebensoviel reines Quecksilber eingefüllt. Das währenddessen gewaschene, noch feuchte Merkurosulfat wird nunmehr mit einigen Tropfen Quecksilber und ganz wenig Kadmiumsulfatlösung in einer Reibschale zu einem gleichmäßigen grauen Brei verrührt. Von diesem gieße man auf das Quecksilber (nicht auf das Amalgam!) eine etwa 5 mm hohe Schicht. Nun fülle man beide Schenkel locker mit gröben Kristallstücken von Kadmiumsulfat fast auf und fülle schließlich alles mit der gesättigten Kadmiumsulfatlösung. Die Öffnungen werden mit nicht überstehenden, einigermaßen schließenden Korkscheiben verschlossen. Mindestens unter einer derselben muß eine Luftblase bleiben, um Wärmeausdehnung der Flüssigkeit zu gestatten. Die Korken werden mit geschmolzenem Paraffin oder Siegellack gedichtet und gefestigt. Das Element kann sogleich benutzt werden. Es ist das Eichungsinstrument für elektromotorische Kräfte. Seine EMK beträgt bei Zimmertemperatur 1,0185 Volt und hängt innerhalb aller in Betracht kommenden Temperaturintervalle kaum von der Temperatur ab. Je nach der Reinheit der angewandten Materialien können kleine Abweichungen vorkommen; bei reinen Materialien ist der erlaubte Fehler ± 0,0002 Volt. Es kann durch Vergleich mit einem von der

Digitized by Google

physikalisch-technischen Reichsanstalt geeichten „transportablen Westonelement“ geeicht werden. Die Eichung des „Gebrauchselements“ erfolgt auf die Weise, daß mit der gleich zu beschreibenden Kompensationsmethode mit Hilfe eines amtlich geeichten Elements die EMK eines Akkumulators bestimmt wird, und dann mit Hilfe dieses Akkumulators sofort hinterher die EMK des zu prüfenden Elements. Das „Westonelement“ enthält kein überschüssiges $CdSO_4$, sondern bei 4° gesättigte Lösung. Seine EMK soll 1,0186 Volt bei Zimmertemperatur (innerhalb aller in Betracht kommenden Temperaturschwankungen) betragen. Die Haltbarkeit eines Kadmiumelements ist unbegrenzt, wenn man ihm keinen Strom entnimmt, wenn es also immer nur in ganz oder nahezu kompensierter Schaltung zur Eichung des Akkumulators benutzt wird. Ist einmal vorübergehender Kurzschluß vorgekommen, so kann die EMK um mehrere Millivolt sinken, erholt sich aber nach einigen Stunden wieder. Man benutzt zur Arbeit immer nur das selbstgefertigte Kadmiumelement. Das geeichte Westonelement dient nur zur gelegentlichen Kontrolle des Arbeitselements.

59. Übung.

Der Gebrauch des Kapillarelektrometers.

Das Kapillarelektrometer besteht aus einem Stativ mit kleinem Mikroskop (50fache Vergrößerung), dem Elektrometerrohr und dem Kurzschluß. Das Stativ (S. 129) dient dazu, das Elektrometerrohr in richtiger Weise zum Mikroskop einstellen zu können. Als Elektrometerrohr benutzt man am besten eine geschlossene Form, wie umstehende Abbildung (Fig. 20). *D* ist ein Deckgläschen, welches mit Kanadabalsam aufgekittet wird. Die Dicke der Kapillare ist von größter Wichtigkeit für die Empfindlichkeit des Instruments. Sie soll nicht zu weit sein; aber auch nicht zu eng, weil dann das Hg oft nicht frei spielt. Vor dem Instandsetzen des Apparats wird durch geeignetes Kippen der größere Teil des Quecksilbers zunächst in das nicht zur Kugel erweiterte Glasrohr gebracht. Nunmehr halte man das Rohr fast senkrecht, so, daß das Glaskugelende nur leicht nach unten geneigt ist, und lasse so viel Quecksilber durch die Kapillare in die Kugel übertropfen, daß, wenn das Abtropfen durch plötzliches Aufrichten des Kugelendes unterbrochen wird, sein Meniskus etwa in der Mitte des Deckglases stehen bleibt. Nunmehr wird das Rohr am Stativ befestigt und so eingestellt, daß man den Meniskus scharf im Mikroskop sieht. Künstliche Beleuchtung

Digitized by Google

ist bei geeignetem Licht (Tisch am Fenster) nicht erforderlich. Die Verbindungsdrähte werden wie in dem Schema Fig. 21 geschaltet. Es müssen gut mit Guttapercha isolierte Drähte genommen werden für alle Leitungen. *c* stellt den „Kurzschluß" dar. Er ist zweckmäßig auf dem Fuß des Stativ befestigt als ein Quecksilbertauchkontakt. Die mit Pfeilen bezeichneten Leitungsdrähte sind für Zu- und Abfuhr des zu messenden Stroms bestimmt; auf ihrem Wege muß sich irgendwo eine Unterbrechungsstelle befinden, die nur im Augenblick der Messung kurze Zeit

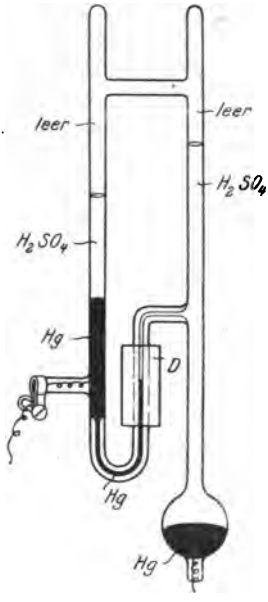


Fig. 20. Kapillarelektrometer.

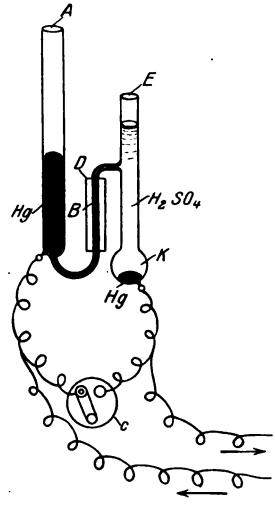


Fig. 21. Schema der Schaltung des Kapillarelektrometers.

(1 Sekunde und weniger) geschlossen wird. Der Kurzschluß dagegen muß dauernd geschlossen sein und wird nur ganz unmittelbar vor jeder Messung geöffnet und nach derselben (d. h. 1 Sekunde später) wieder geschlossen. Das auf dem Stativ montierte Elektrometerrohr muß zunächst mehrere Stunden, am besten 24 Stunden, bei geschlossenem Kurzschluß stehen bleiben. Es ist brauchbar, sobald es folgende Proben besteht: 1. Wenn man den Kurzschluß öffnet (sowenig als irgend möglich mit den Fingern anfassen!), muß der Meniskus in Ruhe bleiben oder jedenfalls in einigen Sekunden keine größere Bewegung machen.

Digitized by Google

2. Wenn man vorsichtig nunmehr bei geöffnetem Kurzschluß einen schwachen Strom durchschickt, muß er sich deutlich bewegen. Einen solchen Prüfungsstrom erzeugt man einfach folgendermaßen. Man steckt in die beiden Klemmschrauben des Kurzschlusses statt der mit Pfeilen bezeichneten Drähte (Fig. 21) zwei kurze einzelne Drähte aus ungleichem Metall (z. B. Cu-Messing oder selbst nur zwei Messingproben, oder Cu-Fe; schließlich bestehen die Klemmschrauben selber niemals aus ganz gleichem Metall) und berührt, nachdem man kurz vorher den Kurzschluß geöffnet hat, die beiden Drähte mit zwei verschiedenen Fingern. Der Meniskus muß sich kräftig bewegen. Wechselt man die Drähte um, muß er sich ebenso leicht nach der anderen Seite bewegen. Man warte bei diesen Beobachtungen nicht, bis der Stand des Meniskus konstant geworden ist. Bloße Konstatierung einer Bewegung über mehrere Striche des Mikrometerokulars genügt; dann schließe man sofort wieder kurz.

Ist das Elektrometer unempfindlich, so wird es oft durch folgenden Kunstgriff empfindlicher. Man schicke einen Strom (wie oben) längere Zeit (minutenlang) hindurch in derjenigen Richtung, daß der Meniskus im Mikroskop nach oben (in Wirklichkeit nach unten) geht. (Niemals aber schicke man längere Zeit einen Strom durch, bei dem der Meniskus im Mikroskop nach unten geht; dann entwickelt sich am Meniskus eine Wasserstoffblase und das Elektrometer muß ganz von vorn wieder in Ordnung gebracht werden.) Dann schließt man wieder kurz, bis die oben angegebenen Prüfungszeichen richtig ausfallen. Bei guter Behandlung bleibt ein Meniskus über Monate brauchbar. Der Anfänger wird ihn häufig erneuern müssen.

60. Übung.

Herstellung der Kompensationsschaltung zur Messung elektromotorischer Kräfte mit Hilfe eines Meßdrahts.

Alle Leitungsdrähte müssen bis auf ihre Enden mit Guttapercha isoliert sein. Man nehme keine andere, schlechtere Isolation. Die Enden der Drähte müssen blank geputzt werden. Kontaktstellen, besonders federnde oder schleifende Kontakte (z. B. am Kurzschluß des Elektrometers in dem beschriebenen Modell) müssen gelegentlich mit einem Tropfen Petroleum befeuchtet werden, mit Ausnahme des Gleitkontaktes am Meßdraht.

Die Schaltung geschieht nach dem Schema Fig. 22. A ist ein Akkumulator, BC der Meßdraht (wie bei der Leitfähigkeitsmessung), D der Schleifkontakt. G ist das Kapillarelektrometer,

Digitized by Google

H das in Frage stehende galvanische Element, in unserem Falle das Kadmiumelement. Man achte genau auf die Stellung der Pole von Akkumulator und Kadmiumelement! Anderenfalls kompensieren sich die elektromotorischen Kräfte nicht, sondern addieren sich; das Normalelement und das Elektrometer werden auf lange Zeit unbrauchbar gemacht.

Nicht in der Figur gezeichnet, aber nicht zu vergessen ist ein Kontakt zum Öffnen und Schließen zwischen A und B, und ein zweiter irgendwo auf der Strecke $DGHC$. Der Stromkreis $ABDCA$ heißt der Hauptstromkreis. Er wird einige Zeit vor Beginn des Versuchs geschlossen und kann am besten die ganze Zeit des Versuchs geschlossen bleiben. Die Drähte AB und AC müssen stark (1 mm) und nicht überflüssig lang sein.

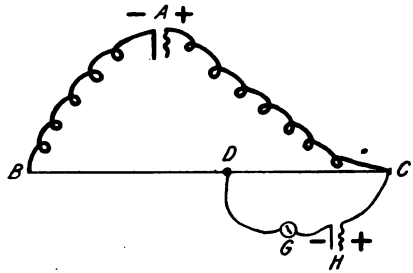


Fig. 22. Schema der Kompensationsschaltung.

Der Kreis $DGHCD$ heißt der Nebenstromkreis. Die Drähte in demselben dürfen beliebig dünn sein.

Der Stromweg $DGHC$ muß zunächst ungeschlossen bleiben (der Kurzschluß des Elektrometers natürlich geschlossen!); H soll also zunächst repräsentiert werden durch das Kadmiumelement. Man stelle den Schleifkontakt D etwa in die Mitte des Meßdrahtes. Das ist die Grundstellung des Apparats, von der wir immer wieder ausgehen.

61. Übung.

Messung der EMK des Akkumulators.

Der Akkumulator hat frisch nach der Ladung eine EMK von merklich mehr als 2 Volt. Man lasse den Hauptstromkreis, wenn der Akkumulator frisch geladen ist, erst einige Zeit geschlossen. Dann fällt die EMK ein wenig und hält sich lange Zeit konstant gegen 1,95–1,85 Volt, ganz allmählich abnehmend.

Digitized by Google

Sobald sie 1,85 Volt erreicht, lade man neu auf. Im Zustande mittlerer Ladung bleibt die EMK sehr lange gleich. In diesem Zustande beginne man die Messung seiner EMK, von der Grundstellung ausgehend, folgendermaßen: 1. Schließen des Hauptstromkreises. 2. Öffnen des Elektrometerkurzschlusses, rasch beobachten, ob der Meniskus des Elektrometers in 1—2 Sekunden sich nicht ändert, dann sofort auf einen Bruchteil einer Sekunde den Nebenstromkreis schließen, indem man gleichzeitig das Elektrometer beobachtet. Sobald man die Bewegung desselben gesehen hat, den Nebenstromkreis wieder öffnen. 3. Kurzschluß des Elektrometers wieder schließen.

Man hat nun beobachtet, ob der Meniskus nach oben oder nach unten gegangen ist. Nun verstellt man den Schleifkontakt D ein wenig, wiederholt das ganze und beobachtet, ob der Ausschlag des Elektrometers größer oder kleiner wird. Je nach dem erhaltenen Resultat verschiebt man nun den Schleifkontakt D nach der Richtung, daß der Ausschlag voraussichtlich kleiner wird und wiederholt die Beobachtung. Man verschiebt weiter, bis der Ausschlag nach der anderen Seite erfolgt und sucht diejenige Stelle auf, bei der der Ausschlag $= 0$ wird. Wird der Elektrometerausschlag kleiner und kleiner (3—4 Teilstriche des Mikrometerokulars), kann man den Nebenstromkreis etwas länger zur Beobachtung geschlossen halten. Ist der Ausschlag nur noch spurenweise, aber erst dann, so kann man zur definitiven Aufsuchung der Nullstellung besser folgendes Verfahren anwenden: 1. Öffnen des Elektrometerkurzschlusses, 2. Schließen des Nebenstromkreises auf 2—3 Sekunden, ins Mikroskop blicken und dann den Elektrometerkurzschluß plötzlich schließen. Man sieht das Elektrometer in seine Ruhestellung zurückzucken. Dieses Zurückzucken geht schneller als das Umgekehrte, ist daher leichter zu beobachten. Dann sofort wieder den Nebenstromkreis öffnen. Mit diesem Verfahren findet man die wirkliche Nullstellung innerhalb eines Bruchteiles eines Millimeters des Meßdrahtes genau.

Ein gut empfindliches Elektrometer soll, wenn die Stellung um 1 mm von der Nullstellung entfernt ist, einen Ausschlag von 2—4 Teilstrichen des Okularmikrometers geben. Man prüfe hiernach die Empfindlichkeit des Elektrometers gelegentlich.

Berechnung des Versuchs. Da der Widerstand $AB + AC$ gegenüber dem Meßdraht vernachlässigt werden kann, ist zwischen B und C dieselbe Potentialdifferenz, wie zwischen den Klemmen des Akkumulators, E_{Acc}. Es ist nun bei Nullstellung die EMK des Kadmiumelements, E_{Cad}, gleich der Potentialdifferenz zwischen D und C (E_{DC}).

Digitized by Google

Nun ist

$$E_{DC} : E_{BC} = \text{Länge}_{DC} : \text{Länge}_{BC}.$$

Also die gesuchte EMK des Akkumulators, E_{BC}

$$E_{BC} = E_{DC} \cdot \frac{\text{Länge}_{BC}}{\text{Länge}_{DC}}$$

oder

$$E_{Acc} = E_{Cad} \cdot \frac{BC}{DC}$$

(Man beachte, daß hier das Verhältnis BC : DC maßgeblich ist, während bei der Leitfähigkeitsmessung BD : DC gesucht wird!) Ist also

$E_{Cad} = 1{,}1085$ Volt, $BC = 1000$ mm, $DC = 555{,}5$ mm,

so ist

$$E_{Acc} = 1{,}1085 \cdot 1000 : 555{,}5 = 1{,}9955 \text{ Volt}.$$

62. Übung.

Der Gebrauch der Rheostaten mit Vorschaltwiderstand[1]).

Direkte Ablesung der Millivolt.

Wer viel Messungen macht, dem sei folgendes Verfahren empfohlen: An Stelle des Meßdrahtes BDC in Fig. 22 benutze man zwei Rheostatenkästen in der Schaltung der Fig. 23. Jeder Kasten hat einen Satz von 1, 2, 2, 5, 10, 20, 20, 50, 100, 100, 200, 500 Ohm (zusammen 1110 Ohm). Die Stöpsel des linken Rheostaten entferne man vor der Messung völlig. Wenn man jetzt z. B. den 50-Ohmstöpsel des rechten Kastens auf die entsprechende Stelle des linken steckt, ist es dasselbe, als wenn man an einem 1110 mm langen Meßdraht den Schleifkontakt von seinem äußersten rechten Ende 50 mm nach links gerückt hätte. Jedes Ohm, welches man vom rechten Kasten zum linken befördert, bewirkt, daß der Potentialabfall zwischen D und C um $^1/_{1110}$ des ganzen Akkumulatorwertes vermehrt wird. Der Abfall zwischen D und C ist also den aus dem rechten Kasten in den linken übertragenen Ohmzahlen proportional. Man kann diesen Proportionalitätsfaktor der Bequemlichkeit wegen so einrichten, daß jedes Ohm 1 Millivolt bedeutet. Zu diesem Zweck braucht man nur die EMK des Akkumulators durch einen zwischen A und B eingeschalteten Vorschaltwiderstand so zu schwächen, daß, wenn 1018,5 Ohm nach links herübergestöpselt sind, gegen

[1]) L. Michaelis, Die Wasserstoffionenkonzentration. 1914.

Digitized by Google

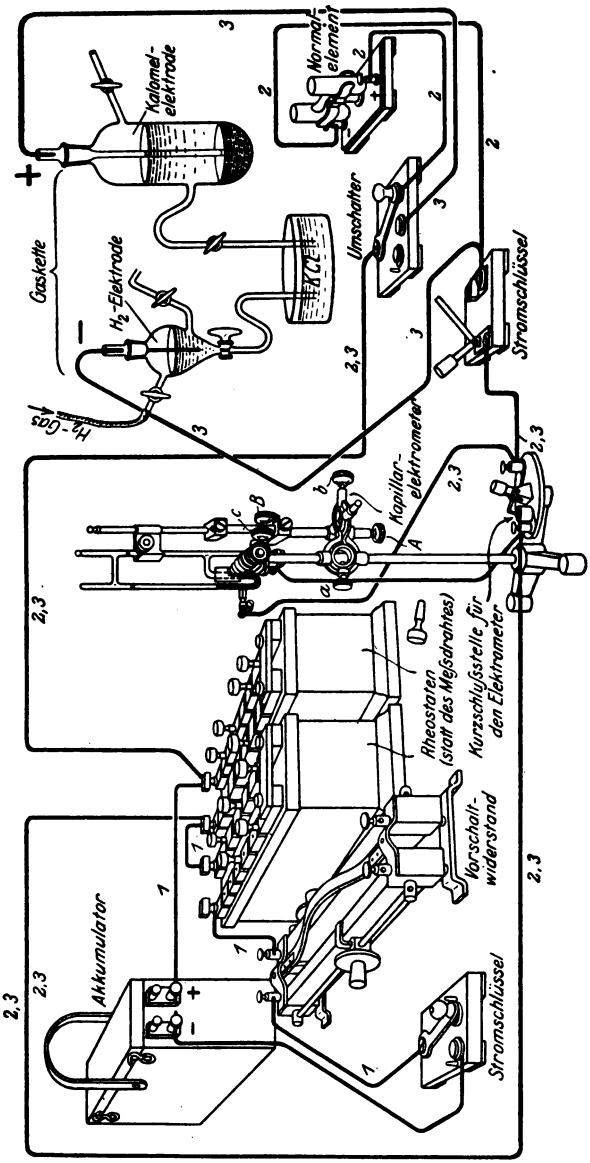


Fig. 23. Halbschematische Darstellung der Kompensationseinrichtung mit Rheostatenkästen und Vorschaltwiderstand. Als das zu messende galvanische Element ist eine „Gaskette" gezeichnet, bestehend aus einer Wasserstoffelektrode (Birnform) und einer Kalomelelektrode.

Digitized by Google

das Kadmiumelement Stromlosigkeit herrscht. Der Vorschaltwiderstand ist ein regulierbarer Gleitwiderstand von insgesamt 1500—2500 Ohm (Fig. 23), mit einer groben und einer feinen Regulierung, ohne sonstige Kalibrierung. Man verfährt also folgendermaßen:

Man entfernt alle Stöpsel des linken Rheostaten und bringt 1018 Ohm von rechts nach links. Man stellt zunächst den Vorschaltwiderstand etwa in mittlerer Stellung des Gleitkontaktes ein und macht wie früher eine Ablesung am Kapillarelektrometer. Man sucht nun diejenige Stellung des Vorschaltwiderstandes heraus, bei welcher Stromlosigkeit ist. Genauer: man sucht diejenige Stellung, bei der die Stöpselung 1018 Ohm einen kleinen Ausschlag des Elektrometers in der einen Richtung, 1019 einen ebensolchen in der andern Richtung gibt. Wenn man so arbeitet, braucht man niemals die EMK des Akkumulators selbst zu kennen. Man reguliert nur immer den Vorschaltwiderstand, daß er der obigen Bedingung genügt. Dann bedeutet bei den nunmehr folgenden Messungen unbekannter elektromotorischer Kräfte, welche an die Stelle des Kadmiumelements gesetzt werden, jedes Ohm, das von rechts nach links gesetzt werden muß, um Ruhe des Elektrometers zu erreichen, genau ein Millivolt. Die Zehntel-Millivolt werden geschätzt. Hiermit ist der Apparat für die Messung einer beliebigen EMK vorbereitet.

63. Übung.

Herstellung von Kalomelelektroden und Cl-Konzentrationsketten mit solchen.

Eine Kalomelelektrode nennt man eine Elektrode aus Quecksilber, welches irgendeine mit Kalomel gesättigte Flüssigkeit berührt. Das Potential einer solchen Elektrode hängt von der Zusammensetzung dieser Flüssigkeit ab. Wir wählen als Flüssigkeit zunächst eine 0,1 normale KCl-Lösung. Reinstes KCl (pro analysi, Kahlbaum) wird kurz schwach geglüht. Nach dem Erkalten im Exsikkator werden 74,56 g in Wasser gelöst und genau auf einen Liter (im Meßkolben) aufgefüllt. Dies ist eine normale Lösung, von der man durch sehr genaues Verdünnen eine zehnfache Verdünnung herstellt.

Als Elektrodengefäß benutzt man die nebenstehende Form (Fig. 24). Der Boden des Gefäßes wird mit einer Schicht reinen Quecksilbers (Reinigung siehe S. 121) gefüllt, so weit, daß der Platinkontakt gut untertaucht. Es ist dringend zu empfehlen,

Digitized by Google

diesen Platinkontakt vorher zu amalgamieren. Es kommt leicht vor, daß das blanke Platin, trotzdem es unter das Quecksilber taucht, durch eine kapillare Schicht von Flüssigkeit mit der über das Quecksilber zu schichtenden Lösung in Berührung tritt. Dann erhält man oft um mehrere Millivolt falsche oder schwankende Potentiale. Diese Amalgamierung geschieht folgendermaßen. Der Platinkontakt wird in konzentrierter Schwefelsäure gereinigt und gewaschen und als Kathode in ein Gefäß mit einer Lösung von 1 % Merkuronitrat mit einigen Tropfen HNO_3 gesteckt, während als Anode eine kleine Platinelektrode fungiert. Nun wird der Strom eines einzelligen (2 Volt) Akkumulators ganz kurze Zeit hindurchgeschickt, nicht länger als das Platin von einer grauen Quecksilberschicht soeben überzogen scheint (1 Minute). Amalgamiert man zu lange oder mit zu starkem Strom, so haftet das Quecksilber nicht, sondern setzt sich in glänzenden Tropfen ab. Nun wird in Wasser abgewaschen und durch Absaugen mit Fließpapier vorsichtig getrocknet. Der Platinkontakt wird jetzt in das Elektrodengefäß eingesetzt, der Glasschliff etwas gefettet.

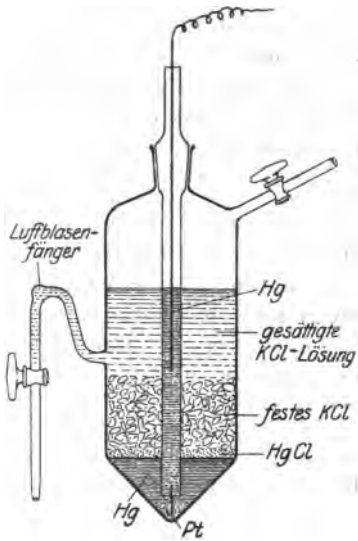


Fig. 24. Kalomelelektrode. Als Füllung ist die der „gesättigten" Kalomelelektrode dargestellt (siehe 68. Übung). Hier wäre an Stelle von „gesättigte KCl-Lösung" zu setzen: „0,1 n. KCl-Lösung", und die Schicht „festes KCl" würde fortfallen.

Nun wasche man ein kleines Löffelchen Kalomel (das Präparat der Apotheken, oder von Kahlbaum) in einer Schale mit etwa 30 ccm der später anzuwendenden (also 0,1 n) KCl-Lösung einige Minuten unter Umrühren mit einem Glasstab, lasse dann das Kalomel sich möglichst absetzen, gieße die Lösung ab und wiederhole das Waschen 5—6mal. Zum Schluß wird es mit etwas KCl-Lösung in das Elektrodengefäß hineingesogen. Der Pt-Kontaktstöpsel wird dabei am besten nicht herausgenommen, um die Platinspitze nicht zu verschmieren. Nachdem das Kalomel sich gesenkt hat (es braucht nur eine Schicht von minimaler Dicke zu bilden), saugt man das Gefäß mit der KCl-Lösung

Digitized by Google

fast voll. Das Abflußrohr muß luftblasenfrei gefüllt sein. Man schließt den Hahn und stellt die Elektrode sofort an einem Stativ so auf, daß das Abflußrohr in eine Lösung von 0,1 n. KCl taucht.

Es soll nun eine Konzentrationskette zwischen einer solchen und einer mit einer anderen Lösung hergestellten Kalomelelektrode gemacht werden. Wir wählen als zweite Lösung folgende Mischung: n. KCl-Lösung 2,00 ccm; n. KNO_3-Lösung (pro analysi, Kahlbaum, völlig Cl-frei!) 18,0 ccm, destilliertes Wasser auf 200 ccm aufgefüllt. Weiter unten wird erörtert werden, was das Lehrreiche gerade dieser Mischung ist.

Die Elektrode wird genau so wie die erste hergestellt, das Kalomel mit der neuen Lösung statt mit der früheren gewaschen. Man kann aber auch, wenn man einmal eine Elektrode mit einer kostbaren Versuchsflüssigkeit machen will, das Kalomel erst 5—6 mal mit destilliertem Wasser und dann nur noch 3 mal mit der eigentlichen Lösung waschen. Man kann dann auch ebenso gut Elektrodengefäße der gleichen Form mit nur 1 bis 1,5 ccm Fassungsraum[1]) nehmen und reicht dann einschließlich des Waschens mit 5—10 ccm Flüssigkeit völlig aus.

Man montiere nun die beiden Kalomelelektroden so, daß ihre Ausflußöffnungen in ein Gefäß mit gesättigter KCl-Lösung tauchen. Diese „Konzentrationskette" setzt man nun in den Apparat zur Messung der EMK an Stelle des Kadmiumelements, und zwar so, daß die Cl-ärmere Lösung dem positiven Pol des Kadmiumelements entspricht. Dann mißt man die EMK.

Arbeitet man mit dem Meßdraht (Fig. 22), so schiebt man den Gleitkontakt so, daß Stromlosigkeit besteht. Dann ist die gesuchte elektromotorische Kraft

$$E = E_{Acc} \cdot \frac{DC}{BC}.$$

Arbeitet man mit Rheostaten und Vorschaltwiderstand, ist die EMK einfach gleich der Zahl der nach links herübergestöpselten Ohm.

Das Resultat muß sein: 0,0577 Volt, wenn die Messung bei 18° geschah; oder allgemeiner

bei 15° 0,0571	bei 20° 0,0581
„ 16° 0,0573	„ 21° 0,0583
„ 17° 0,0575	„ 22° 0,0585
„ 18° 0,0577	„ 23° 0,0587.
„ 19° 0,0579	

[1]) Angefertigt bei Bleckmann u. Burger, Berlin-N., Auguststr. 3a.

Digitized by Google

Die erlaubte Fehlergrenze ist ± 0,0005 Volt. Der Ungeübte wird sich mit ± 0,001 Volt begnügen dürfen. Beispielsweise wurde gefunden: bei 16° 0,0575 Volt.

Das Potential wird alle 5 Minuten gemessen und die Messungen so lange fortgesetzt, bis sie 3mal hintereinander konstant bleiben. Man überzeuge sich, daß sie sich dann auch eine und zwei Stunden später nicht geändert hat. Bei richtigem Arbeiten, besonders wenn der Platinkontakt unter dem Quecksilber amalgamiert war und beim Einfüllen des Kalomels und der Lösung nicht herausgehoben worden ist, stellt sich gleich zu Anfang das definitive Potential mit großer Schärfe ein; langsamere Einstellung (1 Stunde!) kommt allerdings auch vor. Jedenfalls muß die EMK sich kontinuierlich einem definitiven Endwert nähern, wenn die Elektroden in völliger Ruhe stehen. Andernfalls liegen Kontaktfehler, unreines Quecksilber oder dgl. vor, und die Messung ist zu verwerfen.

Die obigen Lösungen wurden für diese Übung deshalb gewählt, weil ihr Resultat theoretisch wichtig ist. Der Cl-Gehalt in den beiden Lösungen verhält sich wie 1 : 10. Da beide Lösungen die gleiche Konzentration an $K^{\cdot}$ besitzen, ist auch der Dissoziationsgrad des Cl in beiden Lösungen gleich, und daher verhält sich auch die Konzentration der Cl-Ionen wie 1 : 10. Nach Nernst ist nun die EMK einer Konzentrationskette

$$E = RT \ln \frac{c_1}{c_2}$$

wo c_1 und c_2 die Konzentrationen der stromerzeugenden Ionen bedeuten, R die Gaskonstante, T die Temperatur vom absoluten Nullpunkt gerechnet. Für 18° und unter Umwandlung in dekadische Logarithmen wird daraus

$$E = 0{,}0577 \cdot \overset{10}{\log} \frac{c_1}{c_2} \text{ Volt.}$$

Ist $c_1 : c_2 = 10 : 1$, so ist $\log (c_1 : c_2) = 1$ und $E = 0{,}0577$ Volt. Diese charakteristische Zahl sollte hier im Experiment vorgeführt werden.

Die stromerzeugenden Ionen sind eigentlich nicht die Cl-Ionen, sondern die Hg-Ionen aus dem gelösten Kalomel. Da aber die Löslichkeit des Kalomel der Cl-Ionenkonzentration umgekehrt proportional ist, kann man die beobachtete elektromotorische Wirkung ebensogut auf die Cl-Ionen beziehen (Elektroden zweiter Ordnung).

Digitized by Google

Als zweites Beispiel für eine Cl-Konzentrationskette nehme man als die eine Elektrode wiederum die Kalomelelektrode mit 0,1 normal KCl, die andere fülle man mit einer Lösung von 0,25 ccm 0,1 n. KCl, 20 ccm n. KNO_3, mit (Cl-freiem!) destilliertem Wasser aufgefüllt auf 200 ccm. Dies ist also eine Lösung von 0,000125 n. KCl in 0,1 n. KNO_3. Da der Kaliumgehalt beider Lösungen annähernd gleich ist, ist auch der Dissoziationsgrad des KCl gleich. Die Cl-Ionen-Konzentrationen in beiden stehen daher in demselben Verhältnis zueinander wie die Konzentrationen an KCl. Überlegen wir uns erst, welche EMK dieser Kette wir z. B. für 17,5° Celsius zu erwarten haben. Es muß sein:

$$E = 0{,}0576 \cdot \log \frac{c_1}{c_2},$$

wo c_1 und c_2 die beiden KCl-Konzentrationen bedeuten. $\frac{c_1}{c_2}$ ist in unserem Fall = 0,00125, also $E = 0{,}0576 \cdot (0{,}097 - 3) =$ − 0,1672 Volt. Gefunden wurde, wenn als positiver Pol die Cl-ärmere Lösung angesetzt wurde

sofort nach Ansetzung der Kette . .	0,1635	Volt
nach 15 Minuten	0,1655	„
„ 30 „	0,1660	„
„ 1 Stunde und weiterhin konstant	0,1666	„ .

Also etwa innerhalb eines halben Millivolts der erwartete Wert.

Das negative Vorzeichen bei 0,1672 Volt rührt von der willkürlichen Definition der positiven Stromrichtung her. Würden wir als c_1 die stärkere, als c_2 die schwächere Cl-Lösung bezeichnen, so erhielten wir + 0,1672 Volt, da

$$\log \frac{c_1}{c_2} = - \log \frac{c_2}{c_1}.$$

Man kann die Konzentrationskette auch umgekehrt dazu benutzen, um den Cl-Ionengehalt einer Lösung zu bestimmen.

64. Übung.

Elektrometrische Bestimmung der Cl-Ionen in einer unbekannten Lösung.

Als „unbekannte Lösung" benutze man eine KCl-Lösung, die von einem andern Laboranten durch Verdünnung aus der 0,1 n. KCl-Lösung hergestellt worden ist, mit der Anweisung, er

Digitized by Google

möge die Lösung zwischen 0,1 n. und 0,00001 n. machen. Man lasse sich von dieser (natürlich in größerer Menge hergestellten) Lösung nicht mehr als etwa 8—10 ccm zur Analyse übergeben, um den Bedürfnissen einer Mikroanalyse im Ernstfall gerecht zu werden.

Man verdünnt die erhaltene Lösung genau mit $^1/_9$ ihres Volumens mit $^1/_1$ n. KNO_3-Lösung (die man vorher auf Cl-Freiheit geprüft hat), damit der Dissoziationsgrad[1]) des Cl in dieser Lösung derselbe sei wie in der 0,1 n. KCl-Lösung, die man als Vergleichsflüssigkeit für die zweite Elektrode benutzt. Man wasche etwas Kalomel 8—10mal mit dest. Wasser. Es genügt, wenn nach dem Waschen ein kleines Messerspitzchen voll Kalomel übrig bleibt. Dieses wasche man noch 3—4mal mit je 1—1,5 ccm der zu untersuchenden Lösung, rühre jedesmal gut um und gieße jedesmal so weit ab wie möglich. Schließlich gießt man den Rest der Lösung auf das Kalomel und saugt diese Flüssigkeit in die Mikroelektrode (wie Fig. 24, nur ohne Hahn am Ausflußrohr) mit einem Fassungsraum von 1—1,5 ccm, nachdem sie vorher mit ein wenig reinem Quecksilber beschickt ist. Man läßt das mitgesaugte Kalomel absetzen und die Flüssigkeit wieder in dieselbe Schale auslaufen. Man saugt nochmals ein und saugt wieder etwas Kalomel mit. Dies wiederholt man, bis nach dem Absetzen über dem Quecksilber überall eine wenn auch dünne Schicht Kalomel liegt. (Eine dicke Schicht Kalomel zu haben ist unvorteilhaft. Sie verschmiert leicht den Kontakt zwischen dem Quecksilber und dem eintauchenden Platindraht.) Nun setze man mit einer 0,1 n. KCl-Kalomelelektrode als zweiter Elektrode eine Konzentrationskette wie in Übung 63 an und bestimme die EMK.

Es ist ratsam, die Mikroelektrode nicht direkt in die gesättigte Kalomellösung tauchen zu lassen. Bei sehr niederem Cl-Gehalt könnte bei der kleinen Elektrodenform doch durch eine Strömung eine Spur in die Elektrode geraten und die Bestimmung fälschen. Man benutze in solchem Falle lieber eine gesättigte Lösung von Ammonnitrat. Hat man noch genug von der zu untersuchenden mit KNO_3 versetzten Lösung übrig, so kann man auch diese nehmen, um die Mikroelektrode in sie einzutauchen. Die 0,1 n. Elektrode taucht man dann in 0,1 n. KCl-Lösung und verbindet die beiden Gefäße durch einen kleinen Glasheber, der mit einer Gallerte aus gesättigter KCl-Lösung + 3% Agar (im Dampfkochtopf zusammengekocht) gefüllt ist.

[1]) Besser sollte man sagen: „Der Aktivitätsgrad der Cl-Ionen" im Sinne der Bjerrumschen Ionenaktivitätstheorie.

Digitized by Google

Nun mißt man die EMK wie in Übung 63. Die Berechnung geschieht nach der Formel

$$E = 0{,}0577 \cdot \log \frac{c_1}{c_2}$$

wenn bei 18° gemessen wurde. Andernfalls setzt man für 0,0577 die S. 134 stehenden Werte ein. c_1 bedeutet die Cl-Konzentration der bekannten, c_2 die der unbekannten Lösung. Wir schreiben die Gleichung in der Form

$$\log \frac{c_1}{c_2} = \frac{E}{0{,}0577},$$

Angenommen, es sei gefunden $E = 0{,}1646$ Volt bei 16,5°. Dann ist

$$\log \frac{c_1}{c_2} = \frac{0{,}1646}{0{,}0574} = 2{,}868$$

und daher $\frac{c_1}{c_2} = 738$.

c_1 ist $= 0{,}1$, also ist $c_2 = \frac{1}{7380}$ normal $= 0{,}0001356$ normal. Das Resultat muß um 10% seines Wertes vermehrt werden wegen der Verdünnung mit der KNO_3; das definitive Resultat ist: 0,000149 normale Cl-Lösung. In Wirklichkeit war die Lösung als eine 0,000138 normale KCl-Lösung hergestellt worden; also ein Fehler von + 8%.

Ein Fehler in der Messung von 2 Millivolt bewirkt einen Fehler von etwa 10% des Gesamtwertes. Ein solcher Fehler kann bei einer Mikromessung sowohl nach oben wie nach unten leicht vorkommen; ± 10% Fehler kann man als nicht sicher vermeidbar betrachten; der Ungeübte wird auch leicht Fehler von ± 20% erhalten. Die hier gewählte Cl-Menge steht nicht weit vor der praktisch erreichbaren unteren Grenze, wenn man Wert auf Genauigkeit legt. Wenn man insgesamt 5 ccm Lösung verbraucht, was leicht durchführbar ist, kann man 0,000002 g Cl als die untere Grenze der mit der angegebenen Genauigkeit bestimmbaren Cl-Menge betrachten.

Will man mit dieser Elektrode eine neue Messung machen, so ist unbedingt notwendig, sie ganz auseinanderzunehmen, zu reinigen, zu trocknen (besonders die Platinspitze!) und von neuem zu füllen.

Digitized by Google

65. Übung.

Messung eines Diffusionspotentials; seine experimentelle Vernichtung.

An der Berührungsstelle zweier verschiedener Flüssigkeiten herrscht eine Potentialdifferenz, welche von Menge und Art der Elektrolyte abhängt. Da man diese Potentialdifferenz nur dadurch messen kann, daß man sie mit zwei metallischen Elektroden ableitet, diese aber selber verschiedene Potentiale gegen die beiden Lösungen haben, so kommt das Diffusionspotential in einer Kette in der Regel nur als Summand der gesamten EMK der Kette zur Geltung. Wir wollen einen Fall zur Übung aufstellen, wo man das reine Diffusionspotential messen kann.

Man fülle zwei Kalomelelektroden, die eine mit 0,1 n. KCl, die andre mit 0,1 HCl. Da die Konzentrationen der Cl-Ionen in beiden Lösungen gleich sind, heben sich die Elektrodenpotentiale auf und es bleibt allein das Diffusionspotential übrig. Man tauche die Abflußöffnungen beider Elektroden in eine Schale, welche eine dieser beiden Flüssigkeiten enthält, gleichgültig, welche von beiden, und messe das Potential. Zu erwarten ist für diesen Fall für 18°

$$E = 0{,}0577 \cdot \log \frac{u_1 + v_2}{u_2 + v_1} \text{ Volt.}$$

u_1 und v_1 ist die Wanderungsgeschwindigkeit des Kation bzw. Anion des einen Elektrolyten, u_2 und v_2 des andern. Es beträgt

für HCl	$u_1 = 330$	$v_1 = 65$
für KCl	$u_1 = 65$	$v_2 = 65$,

also $$E = 0{,}0577 \cdot \log \frac{395}{130} = 0{,}0279 \text{ Volt.}$$

Diesen Wert wird man bei der Messung innerhalb 1 Millivolt genau auch finden (gefunden wurde z. B. 0,0275 Volt).

Nunmehr ändre man nichts weiter, als daß man als Verbindungsflüssigkeit beider Elektroden nicht eine der Elektrodenlösungen benutzt, sondern gesättigte Lösung von KCl, und messe nochmals: die EMK der Kette ist auf 0,0015 Volt gesunken. Zwischenschalten von gesättigter KCl-Lösung vermindert alle Diffusionspotentiale. KCl ist durch NaCl nicht mit gleichem Erfolg ersetzbar ($K^\cdot$ und Cl' haben gleiche Wanderungsgeschwindigkeit, nicht aber $Na^\cdot$ und Cl').

Digitized by Google

Das hier gezeigte Diffusionspotential von 28 Millivolt ist für ein Diffusionspotential besonders groß. Die meisten, gewöhnlich vorkommenden Diffusionspotentiale werden durch gesättigte KCl-Lösung praktisch = 0 gemacht.

66. Übung.

Das Membranpotential der Apfelschale[1]).

Von einem unverletzten Apfel wird eine kleine Calotte abgeschnitten. Der Apfel wird, mit der unverletzten Seite nach unten, in eine Petrischale gelegt, welche mit einer flachen Schicht 0,001 mol. KCl bedeckt ist. Eine Kalomelelektrode taucht man in gehöriger Entfernung vom Apfelrand in diese Lösung, eine zweite Kalomelelektrode bringt man mit der oben befindlichen Schnittfläche des Apfels in Berührung. Man findet eine Potentialdifferenz von ungefähr 0,09 Volt; der positive Pol ist die verletzte Seite des Apfels.

Wiederholt man den Versuch, indem man die unverletzte Seite in 0,01 n. KCl tauchen läßt, so erhält man etwa 0,05 Volt; und mit 0,1 n. KCl etwa 0,01 Volt.

An der Grenze der Apfelschale gegen eine KCl-Lösung entsteht also ein Potential, welches von der Konzentration der KCl-Lösung abhängig ist. Verhalten sich die KCl-Konzentrationen wie 1 : 10, so erhält man einen Potentialunterschied, der beinahe ebenso groß ist wie der von zwei Kalomelelektroden, deren KCl-Konzentration sich wie 1 : 10 verhalten (d. h. welche beinahe 0,0577 Volt erreicht).

Das Potential zwischen der unverletzten Membran und der von der Membran entblößten Stelle des Apfels ist also nicht ein in sich eindeutig definierter Wert, sondern hängt von Natur und Konzentration der die Membran berührenden Lösung ab. Dasselbe gilt für tierische Membranen, nur bleibt hier bei einer Konzentrationsdifferenz von 1 : 10 die Potentialdifferenz noch stärker hinter der erwarteten von 0,0577 Volt zurück.

---

[1]) Jacques Loeb u. R. Beutner, Biochem. Zeitschr. **41**, 1. 1912. Auf R. Beutner, »Die Entstehung elektrischer Ströme in lebenden Geweben«, Stuttgart 1920, wird zum Verständnis dieses Fundamentalversuchs nachdrücklichst verwiesen.

Digitized by Google

67. Übung.

Wasserstoffkonzentrationskette mit strömendem Wasserstoff.

Mit Wasserstoffgas beladenes Platinschwarz hat die elektromotorischen Eigenschaften, als ob es aus metallischen Wasserstoff bestünde. Auf diese Weise kann man Wasserstoffionen-Konzentrationsketten herstellen. Die Form der Elektroden ist je nach den Umständen verschieden zu wählen. Wir wollen als erste Übung die EMK einer H^+-Konzentrationskette zwischen folgenden zwei Lösungen messen.

1. 0,5 ccm nHCl + 19,5 nKCl + 180 ccm destilliertes Wasser, d. h. eine Lösung von 0,0025 nHCl, welche insgesamt einen Cl-Gehalt von 0,1 n hat. 2. 50 ccm nNaOH + 100 ccm n-Essigsäure + 350 ccm Wasser, d. h. eine Lösung von 0,1 n-Essigsäure + 0,1 n-Natriumazetat („Standardazetat").

Man benutze birnförmige[1]) Elektrodengefäße nach Art der Fig. 25. Die Platinelektrode, in Form eines Platindrahtes, ist an dem eingeschliffenen Glasstöpsel befestigt. Sie muß zunächst mit Platinschwarz überzogen werden. In ein kleines Gefäßchen (Fig. 25) füllt man etwa 10 ccm einer Lösung von 1 g Platinchlorid + 0,007 g Bleiazetat in 30 ccm Wasser und bringt in diese eine kleine Hilfselektrode aus Platin, welche man mit dem positiven Pol eines 4-Volt-Akkumulators verbindet. Die zu platinierende Platinelektrode dagegen wird zuerst mit konzentrierter Schwefelsäure gereinigt und mit destilliertem Wasser gut abgespült (oder auch an ihrer Spitze bis eben zum Glühen erhitzt; Vorsicht, daß an der Einschmelzstelle am Glas kein Sprung entsteht!), mit dem negativen Pol des Akkumulators verbunden und in die Platinlösung untergetaucht. Sie überzieht sich unter mäßiger Gasentwicklung bald mit einer samtschwarzen Schicht von Platinschwarz. Bei neuen Elektroden erfordert das bis 5 Minuten, bei schon gebrauchten 1 Minute. Dann wird die Elektrode mit destilliertem Wasser gut ausgewaschen und sofort genau ebenso, wie soeben in der Platinlösung, in ver-

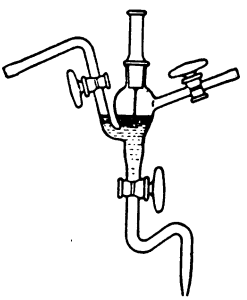


Fig. 25. Wasserstoffelektrode. Birnenform. 1/3 nat. Größe.

[1]) L. Michaelis und A. Gyemant, Biochem. Zeitschr. **109**, 165. 1920.

Digitized by Google

dünnter Schwefelsäure behandelt. Es tritt lebhafte Gasentwicklung ein. Stromrichtung gut beachten! (Fig. 26.)

Dann wird die Elektrode mit Wasser gut ausgewaschen, in das Elektrodengefäß luftdicht (Schliff trocknen und etwas fetten!) eingesetzt und in der Elektrode in mehrfach gewechseltem Wasser 1 Stunde lang weiter gewässert. Dann ist die Elektrode gebrauchsfertig. Die Platinierung muß nach einigen Wochen erneuert werden. Im unbenutzten Zustand müssen alle platinierten Platinelektroden mit destilliertem Wasser gefüllt aufbewahrt werden.

In die eine derartige Elektrode füllt man die eine Lösung, in die andere die andere Lösung ein, indem man die Flüssigkeit bei geeigneter Stellung der Hähne aus einer kleinen Schale

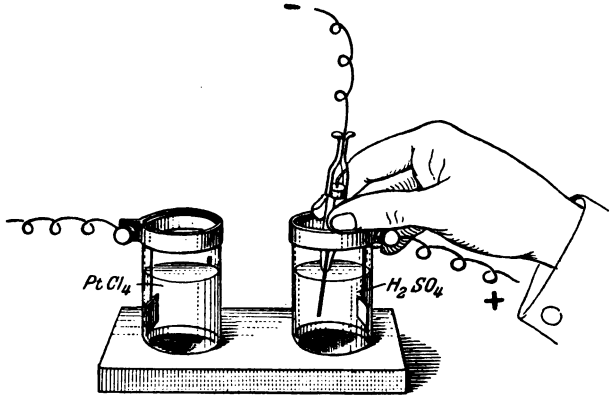


Fig. 26. Platinierung und Reduktion einer Platinelektrode.

einsaugt. Die erste Füllung läßt man wieder auslaufen und erneuert sie, des Auswaschens wegen, noch zweimal. Man achte darauf, daß das Abflußrohr, besonders dicht unter dem Glashahn, luftblasenfrei gefüllt ist. Man läßt die Flüssigkeit dann so weit ausfließen, daß der Platindraht zu einem Drittel eintaucht und befestigt sie an einem Stativ. Der Abflußhahn bleibt von jetzt ab vorläufig geschlossen, Nun leitet man Wasserstoff ein. Derselbe wird aus As-freiem Zink und verdünnter Schwefelsäure mit etwas $CuSO_4$ oder einen Tropfen Platinchlorid entwickelt, mit 2 proz. Lösung von $KMnO_4$ und dann mit konzentrierter Sublimatlösung gewaschen, eventuell noch durch eine dritte Waschflasche, die mit lockerer Watte gefüllt ist, geschickt, und durch den linken (Fig. 25) Glashahn zugeführt, aus dem rechten Hahn abgeleitet.

Digitized by Google

Das Gas perlt durch die Flüssigkeit, treibt ihren Sauerstoff aus, löst sich selbst bis zur Sättigung und erfüllt den Gasraum. Der Gasstrom soll ziemlich lebhaft sein, 3—5 Blasen in der Sekunde. Nach etwa 3 Minuten schließt man erst den abführenden, dann den zuführenden Hahn. Nach wenigen Minuten wird die Durchströmung ein zweites Mal, eventuell ein drittes Mal wiederholt. Dann öffnet man den Glashahn C und läßt die Spitze in ein Schälchen mit gesättigter KCl-Lösung eintauchen. In dasselbe Schälchen taucht auch die zweite Elektrode, die genau ebenso behandelt worden ist.

Diese Konzentrationskette setzt man in die Kompensationsanordnung zur Messung der EMK an die Stelle des Kadmiumelements, derart, daß die HCl-Lösung dem positiven, das Standardazetat dem negativen Pol entspricht. Man mißt die EMK in Abständen von 5 Minuten bis zur Konstanz. Sie muß gleich zu Anfang ganz oder beinahe genau den definitiven Wert zeigen, andernfalls ist die Wasserstoffsättigung noch nicht vollkommen und muß nochmals wiederholt werden. Die Kette gibt bei 18° eine EMK = 0,1140 Volt; erlaubte Abweichungen sind bei gutem Arbeiten nicht mehr als ± 0,7 Millivolt.

Da nun h der angewendeten HCl-Lösung bekannt ist, können wir h des Standardazetats daraus berechnen. Es ist bei 18°

$$E = 0{,}0577 \log \frac{h_{HCl}}{h_{Acet.}}$$

oder

$$\log \frac{h_{HCl}}{h_{Acet.}} = \frac{0{,}1140}{0{,}0577} = 1{,}976$$

oder

$$\frac{h_{HCl}}{h_{Acet.}} = 94{,}6\,.$$

h_{HCl} wäre bei totaler Dissoziation = 0,0025. Man nimmt nun an, daß der Dissoziationsgrad einer schwachen HCl-Lösung in einem Überschuß von KCl derselbe sei, wie in einer reinen HCl-Lösung von gleichem Cl-Gehalt, also wie in einer 0,1 nHCl-Lösung. Diesen Dissoziationsgrad erfährt man durch Vergleich der molaren Leitfähigkeit der HCl in 0,1 n-Lösung im Vergleich zu der bei unendlicher Verdünnung, und man hat ihn gefunden = 0,917. Demnach hat man in unserer Lösung $h_{HCl} = 0{,}0025 \cdot 0{,}917 = 0{,}00229$ n. zu setzen.

Also ist $h_{Acet.} = \frac{0{,}00229}{94{,}6} = 2{,}42 \cdot 10^{-5}$ und $p_h = 4{,}616$.

Digitized by Google

Anmerkung. Wie schon früher erwähnt, ist es sehr zweifelhaft geworden, ob die h einer verdünnten HCl-Lösung auf Grund von Leitfähigkeitsdaten richtig berechnet werden kann. Bjerrum setzt die Aktivität der H·-Ionen, a_h, in der oben angewendeten HCl-Lösung = 0,00202 (statt 0,00229). Dann wäre in Standardazetat $a_h = 0{,}00202 : 94{,}6 = 2{,}14 \cdot 10^{-5}$, und $p_h = 4{,}67$ (statt 4,616). Es ist somit anzunehmen, daß sämtliche p_h-Mes ungen, welche bis jetzt ausgeführt worden sind, um etwa + 0,05 zu korrigieren sind. Diese Korrektur haben wir in diesem Buch noch nicht durchgeführt. Sie würde sich besonders bei derBerechnung der Dissoziationskonstante des Wassers geltend machen.

68. Übung.

Herstellung und Eichung einer gesättigten Kalomelelektrode[1].

Um in einer unbekannten Lösung h zu messen, braucht man eine Vergleichselektrode. Diese war in der vorigen Übung eine H_2-Elektrode in HCl-Lösung von der h = 0,00229 n. Für die Rechnung wäre es einfacher, eine Säurelösung von der h = 1 zu wählen. Das ist wegen des hohen Diffusionspotentials einer solchen Lösung unpraktisch. Aber die Vergleichselektrode braucht überhaupt keine H_2-Elektrode zu sein, sondern kann eine beliebige Metallelektrode sein, welche sich dadurch auszeichnet, daß sie gut haltbar ist und nicht jedesmal gefüllt zu werden braucht. Für diesen Zweck eignet sich am besten die „gesättigte Kalomelelektrode", welche wie die 0,1 n-Kalomelelektrode (S. 130) hergestellt wird, nur nimmt man als Lösung gesättigte KCl-Lösung und schichtet zum Schluß eine dichte hohe Schicht festes KCl noch auf das Kalomel. Solche Elektrode trägt am besten auch am Ausflußrohr einen Glashahn, der stets geschlossen bleiben kann; die gesättigte Lösung in den kapillaren Spalträumen des Hahnschliffes leitet ausreichend gut. Der Hahn dient nur dazu, um die Lösung gelegentlich durchfließen zu lassen, wenn eine Luftblase in das Ausflußrohr kommen sollte. Die Ausflußöffnung taucht stets in gesättigte KCl-Lösung. Diese Elektrode ist somit jahrelang haltbar. Gegen die „Normalwasserstoffelektrode" hat diese Elektrode bei 18° eine Potentialdifferenz von 0,2500 Volt. Man verlasse sich aber auf diese Zahl nicht. Es kommen kleine Abweichungen bei verschiedenen Elektroden vor und jedes Exemplar muß von Zeit zu Zeit ge-

[1] L. Michaelis, Die Wasserstoffionen-Konzentration. Berlin 1914.

Digitized by Google

eicht werden. Die Eichung geschieht dadurch, daß man die Potentialdifferenz gegen eine Wasserstoffelektrode mit Standardazetat bestimmt. Nehmen wir an, diese sei bei 18° = 0,5160 Volt gefunden worden. Hieraus soll berechnet werden, wie groß die Potentialdifferenz der Kalomelelektrode gegen eine Wasserstoffelektrode mit der h = 1fach-normal wäre. Wir hatten p_h des Standardazetats in der 67. Übung = 4,616 gefunden. Also beträgt die Potentialdifferenz des Standardazetats gegen die Normal-H·-Lösung bei 18°

$$E = 4{,}616 \cdot 0{,}0577 \text{ Volt} = 0{,}2663 \text{ Volt.}$$

Folglich hat die Kalomelelektrode gegen die Normal-H·-Elektrode die Potentialdifferenz 0,5160 — 0,2663 = 0,2497 Volt.

Zur Übung der Anwendung messen wir die Potentialdifferenz der so geeichten Kalomelelektrode gegen eine Wasserstoffelektrode, gefüllt mit einer Mischung von gleichen Teilen m/15 prim. Kaliumphosphat und m/15 sek. Natriumphosphat (siehe 11. Übung). Wir finden E = 0,6426 Volt. Somit hat das Phosphatgemisch gegen die Normal-H·-Elektrode den Potentialunterschied

0,6426 — 0,2497 = 0,3929 Volt, und $p_h = 0{,}3929 : 0{,}0577 = 6{,}81$.

69. Übung.

Wasserstoffelektrode mit stehender Gasblase[1]). p_h-Messung in Serum.

Bei Flüssigkeiten, welche CO_2 enthalten und beim Durchströmen mit Wasserstoff eine Abnahme der h erfahren würden, ist eine andere Elektrodenform notwendig. Sie kann auch sonst immer angewendet werden, erfordert aber für die konstante Einstellung des Potentials längere Zeit. Es wird nebenstehende U-Elektrode empfohlen (Fig. 27).

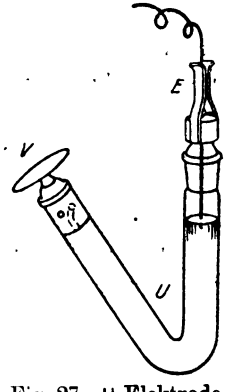


Fig. 27. U-Elektrode.

Die Platinierung geschieht wie vorher. Die zu untersuchende Lösung wird derart eingefüllt, daß zunächst nur der kurze Schenkel ganz und der lange Schenkel zum Teil gefüllt wird. Man lasse nun den — wie oben entwickelten und gewaschenen — Wasserstoff durch ein zu einer 5 cm langen feinen Kapillare ausgezogenes Glasrohr eine

[1]) L. Michaelis, l. c.

Digitized by Google

Weile strömen, bis sicher alle Luft aus dem Rohr ausgetrieben ist. Jetzt nähere man das Ende dieser Kapillare, während das Gas noch strömt, der Elektrode und stecke die Spitze unter die Flüssigkeitsoberfläche. In demselben Augenblick, wo die Spitze eintaucht, quetsche man die Gasleitung dicht oberhalb der Kapillare mit dem Finger zu. Ein dauerndes Durchströmen würde CO_2 austreiben. Nunmehr bringe man die Kapillarenspitze bis auf die tiefste Stelle der U-Rohre und lüfte den zuklemmenden Finger ganz wenig, so daß kleine H_2-Blasen zu der Pt-Elektrode aufsteigen. Man fülle so viel Blasen ein, daß die Platinelektrode mit ihrer Spitze gerade soeben noch eintaucht. Schaumbildung schadet nichts. Dann zieht man die Kapillare heraus und füllt den langen Schenkel des U-Rohrs mit der Lösung ganz auf, setzt den Glasstopfen auf, ohne daß Luftblasen hineinkommen, kippt das Gefäß in geeigneter Weise hin und her, so daß die Wasserstoffblase die ganze Länge des U-Rohres 50 mal hin und 50 mal zurück durchstreicht. Um Druckausgleich herbeizuführen, drehe man gelegentlich, wenn die Gasblase an dem Pt-Ende steht, den Glasstopfen einmal um sich selbst, wobei eine geeignete Bohrung vorübergehend Kommunikation mit der Außenluft herstellt. Wenn das Kippen beendet ist und die Gasblase wieder auf der Pt-Seite steht, zieht man den Glasstopfen heraus und befestigt die Elektrode an einem Stativ. Ihre Flüssigkeitsverbindung wird folgendermaßen hergestellt.

Ein kleines stark gebogenes Glasrohr, das an einem Ende zu einer kurzen, feinen Spitze ausgezogen ist, wird luftblasenfrei mit einer noch warmen Lösung von 3 g Agar + 40 g KCl in 100 g Wasser (längere Zeit im Wasserbad gekocht!) gefüllt. Der Agar erstarrt in dem Rohr bald. Bei Nichtgebrauch wird das Rohr in gesättigter KCl-Lösung aufbewahrt. Bei Gebrauch wird es abgetrocknet und so befestigt, daß die Spitze gerade in die Elektrodenflüssigkeit und das andere Ende in ein Gefäß mit gesättigter KCl-Lösung eintaucht.

Als Versuchsflüssigkeit benutze man Blutserum, als Vergleichselektrode die gesättigte Kalomelelektrode als positiven Pol. Je nach der CO_2-Abgabe, die das Blutserum beim Stehen an der Luft schon erlitten hat, erhält man verschiedene Werte; p_h gewöhnlich 7,6 bis 7,7; d. h. die Potentialdifferenz gegen die gesättigte Kalomelelektrode um 0,69 Volt.

Digitized by Google

70. Übung.

h-Messung im Blut[1]).

Für Blut eignet sich am einfachsten folgende Methode, welche darauf beruht, daß Blut keine Änderung des p_H erfährt, wenn man es mit physiologischer CO_2-freier ClNa-Lösung verdünnt. 0,85 proz. NaCl-Lösung wird in einem Jenenser Kolben ausgekocht und unter Verschluß abgekühlt. Mit dieser Lösung wird eine U-Elektrode wie gewöhnlich gefüllt und mit der H_2-Blase versehen, aber noch nicht durchgeschüttelt. Der längere Schenkel bleibt zur Hälfte frei. Nunmehr gibt man an die Wand des frei gebliebenen Teils einige Körnchen Hirudin, entnimmt Blut aus der Ellbogenvene mit einer Spritze und füllt das frische Blut in den leer gebliebenen Teil des U-Rohres völlig auf, verschließt mit dem Glasstopfen und schüttelt dann sofort wie gewöhnlich um. Sollte sich ein Gerinnsel am Platin bilden, so stellt sich kein konstantes oder ein scheinbar konstantes, falsches Potential ein.

Das Potential stellt sich auf die beschriebene Weise sehr schnell zur Konstanz ein. Man wiederhole die Messung der EMK nach der Anordnung der Gaskette alle 5 Minuten so lange, bis 3 aufeinander folgende Ablesungen konstant bleiben.

Man erhält für venöses Blut des Menschen bei 18°: 0,674 Volt gegen die gesättigte Kalomelelektrode, entsprechend $p_h = 7{,}35$.

71. Übung.

Elektrometrische Mikroanalyse von Kalziumoxyd.

Es sei die Aufgabe gestellt, eine Menge CaO im Betrage von 0,1 bis 0,2 Milligramm quantitativ zu bestimmen. Dieses CaO wird wohl stets aus der zu analysierenden Asche in Form von Kalkoxalat gegeben sein. Wir wollen uns nicht die Aufgabe stellen, dieses Oxalat herzustellen, sondern nehmen irgendein organisches Ca-Salz in obigem Betrag als gegeben an. Dieses wird, ebenso wie man es mit dem Oxalat machen würde, durch Glühen in CaO verwandelt, und dieses wollen wir bestimmen. Um eine so kleine Menge CaO mit Genauigkeit zu erhalten, verfahren wir folgendermaßen.

In einem geglühten und gewogenen Platintiegel wird reinstes CaO (pro analysi, Kahlbaum) fein zerrieben in einer Menge von

[1]) In Anlehnung an das Prinzip von K. A. Hasselbalch, Biochem. Zeitschr. 49, 451. 1913, nach L. Michaelis l. c.

Digitized by Google

ein Platindraht eingeschmolzen, der über die untere Öffnung der Glocke ein wenig herüberragt. Das andere Ende des Platindrahtes ist von einem angeschmolzenen Glasstutzen umgeben, in den Quecksilber eingefüllt ist. In ihn taucht der ableitende Kupferdraht. Die Elektrode wird wie in Fig. 28 an einem Stativ über einer Porzellanschale derart befestigt, daß der Glockenrand in die zu titrierende Flüssigkeit etwas eintaucht. Über dieser Flüssigkeit ist ferner die Titrierbürette mit 0,1 nNaOH angebracht. Ferner taucht in die Lösung noch ein KCl-Agar-Heber (s. S. 44) ein, der an seinem anderen Ende in gesättigter KCl-Lösung steht. In diese taucht außerdem eine gesättigte Kalomelelektrode (s. S. 142) ein.

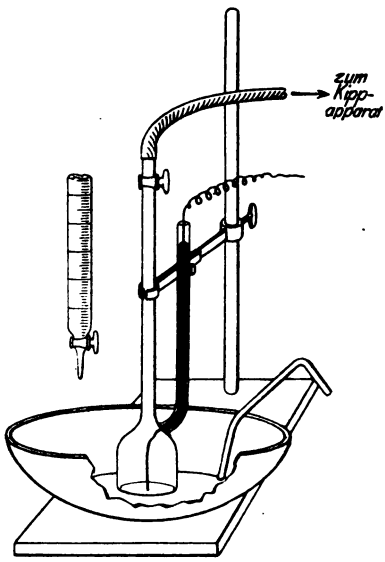


Fig. 28. Elektrometrische Titration mit der Glockenelektrode.

Der Platindraht wird vor der Benutzung auf folgende Weise vorbereitet. Das etwa $^1/_2$ cm überragende Ende des Drahtes wird vorsichtig in einem kleinen Flämmchen schwach geglüht und der ganze Draht dann mit Hilfe einer Pinzette in eine leichte Schraubenwindung gelegt, so daß er nicht mehr überragt, sondern sogar noch 1 bis 2 mm innerhalb der Glocke endet. Dann befestigt man die Elektrode über einer Schale mit Platinierungsflüssigkeit, saugt die Glocke mit dieser voll und platiniert ihn mit Hilfe einer außen befindlichen Hilfselektrode aus Platin (wie S. 140). Dann wird die Platinlösung ausgewaschen und durch verdünnte Schwefelsäure ersetzt und diese kathodisch polarisiert, zum Schluß gewaschen.

Wir stellen uns nun die Aufgabe, 10 ccm 0,03 nHCl mit 0,1 nNaOH zu titrieren. Wir füllen die 10 ccm der Säure in die Porzellanschale, die Lauge in die Bürette, in der Anordnung der Fig. 28. Nun leitet man einen Strom Wasserstoffgas von oben her durch die Glocke, in der Sekunde 1—2 Blasen, etwa $^1/_2$—1 Liter, und dreht den Glashahn zu. Bei richtiger Länge des Platindrahtes gelingt es leicht, die Gaszuleitung in einem Augenblick zu unterbrechen, wo die Spitze des Drahtes gerade

Digitized by Google

nur eben noch eintaucht. Während der Gasdurchleitung soll der Draht abwechselnd eintauchen und nicht eintauchen in dem Maße, wie die Glocke sich abwechselnd mit Gas füllt und ruckweise entleert. Hierdurch wird gleichzeitig die genügende Spülung der Elektrode nach jedesmaligem Laugenzusatz bewirkt. Eine weitere Spülung ist nicht erforderlich. Je weniger die Platinspitze zum Schluß eintaucht, um so schneller stellt sich das Potential ein. Man taucht nun auch den KCl-Agarheber ein, der eine möglichst feine Spitze besitzen soll, und liest das Potential ab. Der positive Pol ist die Kalomelelektrode. Während der Einstellung des Potentials muß der Apparat ganz erschütterungsfrei stehen. Es genügt, die Einstellung auf 2—3 Millivolt genau abzuwarten; die äußerste Genauigkeit in bezug auf endgültige Konstanz ist meist nicht erforderlich. Nun gibt man z. B. 0,5 ccm Lauge zu, mischt um und wiederholt die Wasserstoffdurchleitung. Die Einstellung erfordert jedesmal nur wenige Minuten; ist sie nach 15 Minuten noch nicht konstant, so ist die Platinierung verdorben. Dann läßt man wieder eine Portion Lauge zu usw. Die gesamte Titration erfordert etwa 2 Stunden.

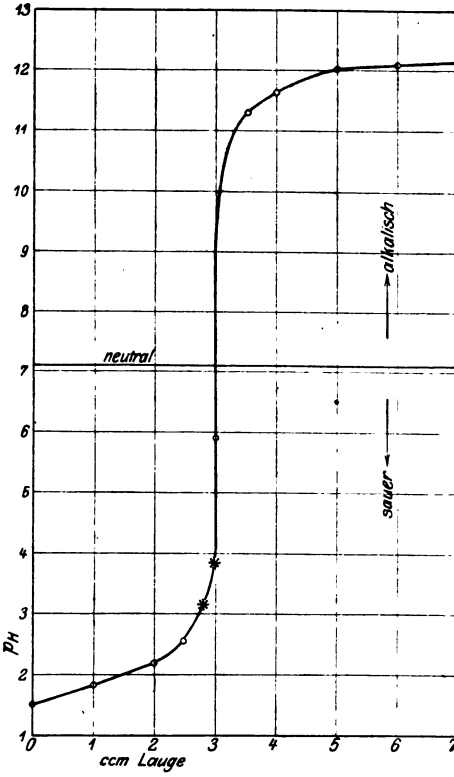


Fig. 29. 3 ccm 0,1 n. HCl werden mit steigenden Mengen 0,1 n. NaOH versetzt. Abszisse: ccm der Lauge. Ordinate: p_h.

Man zeichnet nun in einem Koordinatensystem auf der Abszisse die Kubikzentimeter der zugesetzten Lauge, auf der Ordinate die Millivolt auf. Statt dessen zeichnet man besser noch den daraus berechneten Wert von p_h auf der Ordinate auf. Das Resultat

Digitized by Google

ist im Diagramm 29 wiedergegeben. Die Kreise geben die beobachteten Punkte wieder; sie sind durch die theoretisch berechnete Kurve ergänzt. Das Ende der Titration ist bei 3 ccm Lauge zu erwarten. Hier springt p_h plötzlich von 4 auf 10; d. h. es springt plötzlich von einem Punkt, der selbst für Methylorange noch sauer ist, auf einen Punkt, der sogar schon für Phenolphtalein alkalisch ist. Man versteht hier erst richtig, warum

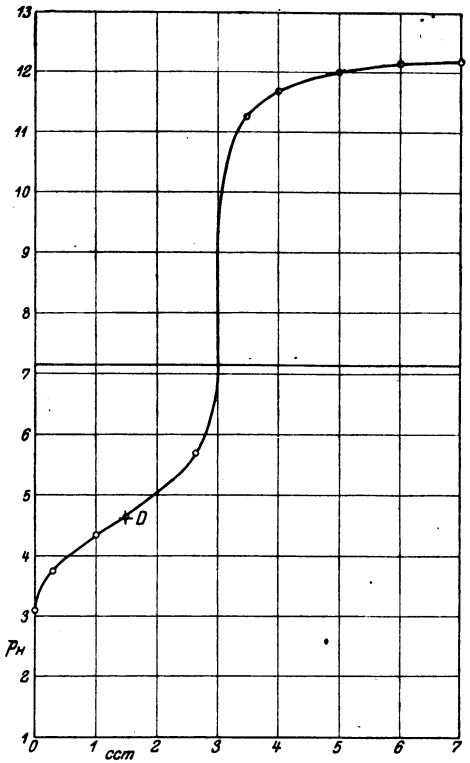


Fig. 30. 3 ccm 0,1 n. Essigsäure werden mit 0,1 n. NaOH titriert. Bezeichnung wie in Fig. 29. Bei *D* ist die Ordinate gleich dem negativen Logarithmus der Dissoziationskonstante der titrierten Säure.

es gleichgültig ist, mit welchem dieser beiden so unähnlichen Indikatoren man eine Mineralsäure titriert.

Titriert man Essigsäure unter gleichen Bedingungen, so erhält man das Diagramm 30. Der Sprung bei der äquivalenten

Digitized by Google

Menge NaOH geht hier von $p_h = 7$ bis $p_h = 10$. Er liegt also außerhalb des Bereichs des Methylorange und wird nur von Phenolphtalein angezeigt.

Titriert man ein Gemisch von 3 ccm 0,1 nHCl + 3 ccm 0,1 n Essigsäure (Fig. 31), so macht sich am Schluß der HCl nur eine kleine Aufbiegung bemerkbar, am Schluß der Essigsäure eine zweite, größere.

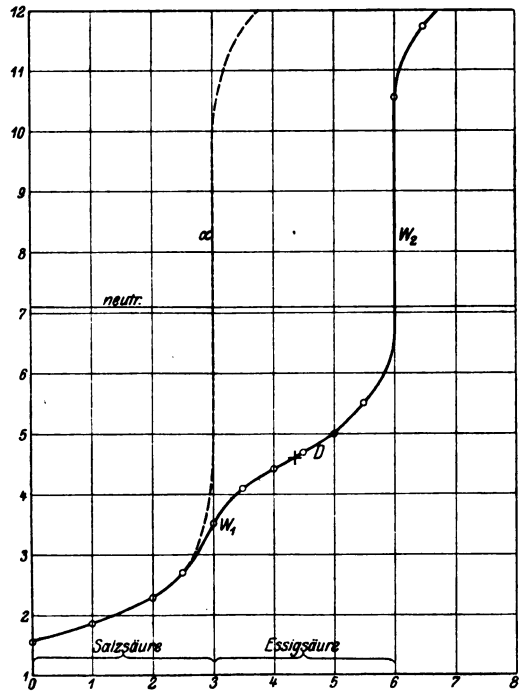


Fig. 31. 3 ccm 0,1 n. HCl + 3 ccm 0,1 n. Essigsäure werden mit 0,1 n. NaOH titriert. Ohne Essigsäure würde die Kurve sich wie α fortsetzen. W_1 Wendepunkt nach Austitrierung der HCl, W_2 Wendepunkt nach Austitrierung der Essigsäure. Sonstige Bezeichnungen wie Fig. 29 und 30.

Titriert man ein Gemisch von HCl + Phosphorsäure, so ist zwischen dem Ende der HCl und dem Anfang der H_3PO_4 keine Grenze bemerkbar, weil beides starke Mineralsäuren sind. Sobald das primäre Phosphat völlig ausgebildet ist, erfolgt ein Sprung von $p_h = 4$ bis 5 (Methylorange-Umschlag); sobald das sekun-

Digitized by Google

däre Salz fertig gebildet ist, ein Sprung von 8 nach 9,5 (Phenolphtalein-Umschlag). Die Bildung des tertiären Phosphats ist schlecht bemerkbar.

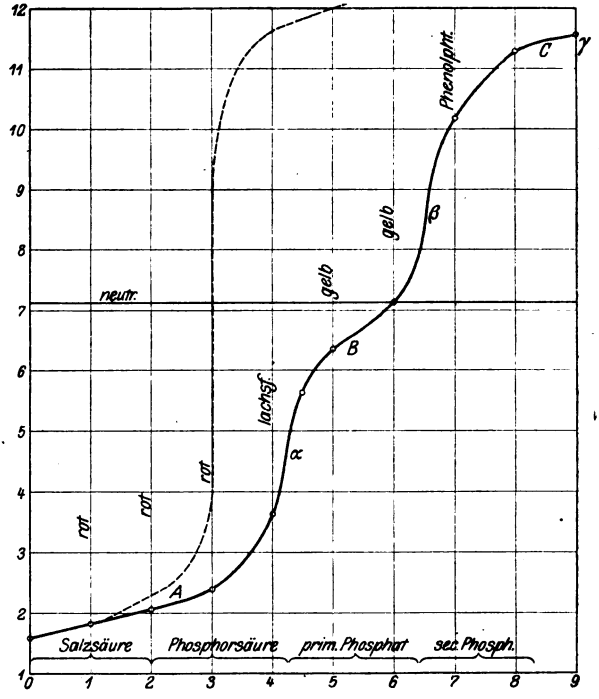


Fig. 32. 2 ccm 0,1 n. HCl + 2,2 ccm 0,1 mol. Phosphorsäure werden mit 0,1 n. NaOH titriert. α ist der p_H-Sprung, wenn das primäre Phosphat völlig gebildet ist, β derselbe für das sekundäre Phosphat. Die Farbenangaben beziehen sich auf die Nuance, welche Dimethylaminoazobenzol (s. 17. Übung) geben würde. Phenolpht. bedeutet den Umschlag des Phenolphtalein.

XV. Reaktionskinetik.

Um einen Einblick in reaktionskinetische Methoden zu erhalten, geben wir zwei wirklich ausgeführte Versuchsbeispiele mit allen ihren Fehlern und betrachten die Resultate theoretisch und auch besonders kritisch auf die infolge der Versuchsfehler zu erwartenden und wirklich vorhandenen Abweichungen von der Theorie.

Digitized by Google

73. Übung.

Die Säurespaltung des Rohrzuckers.

20 g Rohrzucker werden zu einem Volumen von 200 ccm destilliertem Wasser gelöst und in einem 500 ccm fassenden Kolben in ein großes Wasserbad von Zimmertemperatur gestellt. In einem zweiten ebensolchen Kolben werden 200 ccm 4,0 n Salzsäure gebracht und ebenfalls ins Wasserbad gestellt. Die Temperatur des Wasserbades wird genau festgestellt und während der ganzen Versuchsdauer mindestens innerhalb 0,1° konstant gehalten. Nachdem die Temperatur sich überall ausgeglichen hat, wird der Inhalt beider Kolben vermischt, der Zeitpunkt notiert und so schnell als möglich mit einer Pipette eine Probe entnommen, in ein Polarisationsrohr gefüllt und sofort im Polarisationsapparat abgelesen. Es werden innerhalb von 1—2 Minuten 5—6 Ablesungen gemacht, bei jeder einzelnen Ablesung die Zeit notiert und dann sowohl von der Zeit wie von den Ablesungen das Mittel genommen. In Abständen von 20—30 Minuten werden weitere Entnahmen gemacht und in derselben Weise abgelesen. Die Ablesungen werden mit Rücksicht auf die etwa fehlerhafte Nullstellung des Apparates korrigiert.

Es ergab sich in einem Fall folgendes Resultat:

Tabelle 1[1]).

Nr.	Zeit in Min. t	Drehung in Graden °	Drehungsabnahme x	$k_0 = \frac{x}{t}$
1.	0	[6,53]	0	
2.	2	6,35	0,18	0,0900
3.	4,5	6,10	0,43	0,0955
4.	25,0	4,26	2,27	0,0908
5.	41,5	3,05	3,48	0,0838
6.	68,5	1,64	4,89	0,0714
7.	98,5	0,65	5,88	0,0598
8.	128,5	— 0,23	6,76	0,0526
9.	149,5	— 0,60	7,13	0,0477
10.	24 Std.	— 2,19	8,72	—

[1]) Die Ablesungen wurden aus äußeren Gründen in einem 18,94 cm langen Rohr gemacht. Sie sind so angegeben, wie sie gemacht wurden.

Digitized by Google

Die Drehung für die Zeit der Vermischung wird durch eine Extrapolation ermittelt. Zwischen Ablesung 2 und 3 hat eine Drehungsänderung von 0,25° stattgefunden, pro Minute also 0,10°. Daraus schließen wir, daß 2 Min. vor der Entnahme 2 die Drehung um 0,20° größer gewesen wäre und setzen den Anfangswert = 6,55°. Berechnen wir zwischen der Entnahme 2 und 4 die Drehungsabnahme pro Minute, so ergibt sich 0,091°. In diesem Fall würde die Extrapolation auf die Zeit 0 zu dem Anfangswert 6,53 führen. Zwischen weiteren Zeiträumen dürfen wir die mittlere Drehungsabnahme pro Minute nicht mehr berechnen, weil ja hierbei die Voraussetzung gemacht wurde, daß diese im Laufe der Zeit sich nicht ändert. Für so kurze Zeiten können wir das aber für die Extrapolation vernachlässigen und legen der aus dem größeren Zeitintervall berechneten Extrapolation den größeren Wert bei, zumal sie sich von der andern nur sehr wenig unterscheidet. Wir setzen also als Anfangswert 6,53 und klammern ihn in der Tabelle ein zum Zeichen, daß er nicht direkt beobachtet ist.

Wir wollen nun die „Reaktionsordnung" des Prozesses feststellen. Wir setzen als bekannt nur voraus, daß bei genügend langer Zeit die Inversion des Rohrzuckers vollkommen ist, d. h. daß das definitive Gleichgewicht zwischen Sacharose zu Invertzucker derart ist, daß keine meßbare Menge Sacharose neben Invertzucker übrig bleibt. Unter dieser Bedingung sind die einfachsten Möglichkeiten des Reaktionsverlaufs

1. Der lineare Verlauf oder die Reaktion nullter Ordnung. Die in jedem Augenblick verschwindende Rohrzuckermenge ist unabhängig von der jeweils noch vorhandenen Rohrzuckermenge; in gleichen Zeiten verschwinden gleiche Mengen Rohrzucker:

$$x = k_0 \cdot t.$$

x bedeutet die zur Zeit t verschwundene Rohrzuckermenge oder die zur Zeit t gebildete Invertzuckermenge. k_0 ist ein Proportionalitätsfaktor, welcher von der Anfangsmenge des Rohrzuckers unabhängig ist. Dagegen kann k_0 von der Temperatur, von der HCl-Konzentration (und andern Einflüssen) abhängen, die sich in unserm Versuch aber nicht äußern können, da wir Temperatur und HCl-Konzentration konstant halten. Wenn der Reaktionsverlauf dieser ist, so ist

$$\frac{x}{t} = k_0.$$

Digitized by Google

Hier können wir x in beliebigen Maßeinheiten messen; das hat nur Einfluß auf den absoluten Wert von k_0. Wir werden also x einfach durch die Drehungsabnahme ausdrücken, welche der Menge des verschwundenen Rohrzuckers (und des gebildeten Invertzuckers) proportional sein muß. Die 3. Spalte der Tabelle 1 ist also x. Wir finden nun für die verschiedenen Entnahmen die in der letzten Spalte notierten Werte für k_0.

Wir sehen, daß $\frac{x}{t}$ nicht konstant ist, sondern mit fortschreitender Zeit abnimmt. Die Reaktion verläuft also nicht linear.

2. Die unimolekulare Reaktion oder Reaktion erster Ordnung. Die in jedem Augenblick verschwindende Rohrzuckermenge ist ein ganz bestimmter Bruchteil der jeweils noch vorhandenen Rohrzuckermenge. Diese Annahme ist durch die Differentialgleichung

$$\frac{dx}{dt} = k_1 \cdot (a - x),$$

wo x wieder die zur Zeit t verschwundene Menge Rohrzucker (oder gebildete Menge Invertzucker), und a die Anfangsmenge des Rohrzuckers bedeutet. Integriert lautet die Gleichung:

$$\frac{1}{t} \cdot \log \frac{a}{a - x} = 0{,}4343 \cdot k_1 = k.$$

Hier kommt zwar im Gegensatz zum linearen Reaktionsverlauf die Anfangsmenge a vor, aber nur in Form des Bruches $\frac{a}{a - x}$. Es ist daher gleichgültig, in welcher Maßeinheit wir a und x messen. Wir wollen beide wieder in Graden Drehungsänderung messen. a ist dann die gesamte durchlaufene Drehung; also nicht die Anfangsdrehung allein, sondern dazu noch der Betrag der Linksdrehung zum Schluß,

$$a \text{ ist also } = 6{,}53 + 2{,}19 = 8{,}72.$$

Wenn eine Saccharoselösung die Drehung m hat, so hat sie nach vollständiger Inversion die Drehung $-0{,}31$ bis $-0{,}32 \cdot m$. Dieser Faktor ist von der Temperatur und auch von der Konzentration des Zuckers ziemlich stark abhängig. Legen wir 0,32 der Rechnung zugrunde, so hätte sich als Schlußdrehung ergeben müssen $-2{,}09^\circ$, ein Wert, der in Anbetracht der erwähnten Unsicherheit mit der Beobachtung ($-2{,}19^\circ$) befriedigend übereinstimmt. Wir legen der Rechnung die wirklich beobachtete Schlußdrehung zugrunde.

Auf diese Weise ist die Tabelle 2 berechnet.

Digitized by Google

Tabelle 2.

$a = 8{,}72$. $\lg a = 0{,}941$.

t	x	a−x	lg (a−x)	$\lg \frac{a}{a-x}$	$\frac{1}{t} \cdot \lg \frac{a}{a-x} = k$
0	0	8,72	0,941	—	—
2	0,18	8,54	0,931	0,010	0,00500
4,5	0,43	8,29	0,919	0,022	0,00488
25,0	2,27	6,45	0,810	0,131	0,00524
41,5	3,48	5,24	0,719	0,222	0,00535
68,5	4,89	3,83	0,583	0,358	0,00523
98,5	5,88	2,84	0,453	0,488	0,00500
128,5	6,76	1,96	0,292	0,649	0,00503
149,5	7,13	1,59	0,201	0,740	0,00495

Im Mittel $k_m = 0{,}00508$

Wir sehen, daß die Ausdrücke der letzten Spalten annähernd konstant sind und finden somit zunächst angenähert, daß die Annahme des unimolekularen Verlaufs zutreffend ist. Um dies noch genauer zu entscheiden, verfahren wir folgendermaßen: Wir nehmen aus den verschiedenen k-Werten das arithmetische Mittel; es sei $= k_m = 0{,}00508$. Nun rechnen wir aus, wie groß für ein solches k_m bei jedem Wert von t der Wert (a−x) hätte sein müssen. Wir benutzen dazu die letzte Gleichung in der Umformung $\log (a-x) = \log a - kt$.

Diese Rechnung zeigt Tabelle 3.

Tabelle 3.

$k_m = 0{,}00508$. $\lg a = 0{,}941$.

t	$k_m \cdot t$	$\lg a - k_m t = \lg (a-x)$	a−x berechnet	a−x beobachtet	Differenz zwischen (a−x) beobachtet und berechnet in Graden
0	—	0,941	[8,72]	8,72	—
2,0	0,0102	0,931	8,53	8,54	+ 0,01
4,5	0,0229	0,918	8,28	8,29	+ 0,01
25,0	0,127	0,814	6,52	6,45	— 0,07
41,5	0,218	0,723	5,29	5,24	— 0,05
68,5	0,348	0,593	3,92	3,83	— 0,09
98,5	0,500	0,441	2,76	2,84	+ 0,08
128,5	0,653	0,288	1,94	1,96	+ 0,02
149,5	0,760	0,181	1,52	1,59	+ 0,07

Digitized by Google

Die Abweichungen der beobachteten und berechneten Werte betragen in keinem Falle mehr als einige hundertstel Grade und liegen somit innerhalb der Fehlergrenzen. Daß auch die Beobachtung nach 2 und nach 4,5 Minuten so gut stimmen, ist ein Zufall. Bei der Kleinheit der Umsätze, der Ungenauigkeit der Zeitbestimmungen für so kleine Intervalle wären hier auch größere Unstimmigkeiten erträglich gewesen.

Sieht man von den ersten beiden unsicheren Werten ab, so scheint sich ein leichter „Gang" der Konstanten bemerkbar zu machen. Die Abweichungen sind erst alle negativ, dann alle positiv, während ein ungeordnetes Pendeln um einen Mittelwert erwartet werden sollte. Die Abweichungen sind zwar klein, aber es ist immerhin auffällig. Haben wir deshalb ein Recht, diesem Umstand eine sachliche Bedeutung beizulegen? Das ist nicht der Fall. Der Wert für a, der der ganzen Rechnung zugrunde liegt, ist durch eine Extrapolation entstanden und trägt eine etwas größere Unsicherheit in sich als die anderen Zahlen. Setzen wir a nur um $0{,}02^{\circ}$ kleiner an, was durchaus im Bereich der Fehlergrenzen liegt, so hat das auf die ganze Rechnung einen derartigen Einfluß, daß von einem „Gang" der Konstanten nichts mehr bemerkbar ist, wie man nachrechnen möge.

74. Übung.

Die fermentative Spaltung des Rohrzuckers.

Als Ferment benutzen wir die Saccharase (Invertin, Invertase) der Hefe. 100 g frische Bäckerhefe werden in einem Mörser zunächst mit wenig, dann immer mehr Wasser gut verrührt, insgesamt 200 ccm, mit 5 ccm Chloroform versetzt und 4—5 Tage verschlossen im Brutschrank gehalten. Dann wird das Gemisch mit einigen Tropfen starker Essigsäure versetzt und etwa 20 g feinpulveriges Kaolin zugegeben, gut durchgeschüttelt und nach einigen Minuten durch ein großes Faltenfilter filtriert. Der erste Teil des Filtrats ist oft noch trübe, er wird in die Vorratsflasche zurückgegossen und das Filtrat erst dann endgültig aufgefangen, wenn eine leicht gelbliche, aber völlig klare Lösung durchläuft. Für unsere Zwecke ist eine weitere Reinigung durch Dialyse nicht erforderlich. Das Ferment hält sich, mit etwas Chloroform oder Toluol versetzt, im Eisschrank so gut wie unbeschränkt in voller Wirksamkeit. Seine Wirksamkeit fällt natürlich je nach der Beschaffenheit der Hefe etwas verschieden aus.

Man braucht nun ein Ostwaldsches Wasserbad mit Rührwerk,

Digitized by Google

welches man auf eine Temperatur um 25° einstellt. Die Temperaturschwankung soll ± 0,05° möglichst nicht überschreiten.

Man stellt eine Lösung von etwa 10 g Saccharose auf 300 ccm destilliertes Wasser her und wärmt sie in einem 500 ccm fassenden Kolben im Wasserbad vor. In einem zweiten ebensolchen Kolben wärmt man eine Mischung von 20 ccm Fermentlösung + 20 ccm 0,1 n. Natriumazetat + 20 ccm 0,1 n. Essigsäure + 140 ccm (d. h. auf 200 ccm) Wasser vor. Gleichzeitig stellt man (außerhalb des Wasserbades) etwa 10 — 12 Erlenmeyerkolben mit je genau 3 ccm einer 0,5 mol. Lösung von Na_2CO_3 zurecht. (Die Konzentration dieser Sodalösung soll derart sein, daß die auf die gleich zu beschreibende Weise mit ihr vermischte saure Zuckerlösung gegen Lackmuspapier unzweifelhaft alkalisch wird.)

Nachdem die beiden Kolben im Wasserbad genügend vorgewärmt sind, mischt man ihren Inhalt zusammen, notiert die Zeit und entnimmt sobald als möglich mit einer Vollpipette 25 ccm und läßt sie in einen der Kolben mit Sodalösung fließen. Die Zeit dieser ersten Entnahme wird notiert. Dann entnimmt man in genügenden Abständen weitere Proben in derselben Weise.

Die Sodalösung hat einen doppelten Zweck. Erstens unterbricht sie die Fermentwirkung. Zweitens bewirkt sie, daß die Multirotation der durch die Invertierung frisch entstandenen Glukose schnell auf die normale Drehung gebracht wird. (Bei der Säurespaltung tritt gleich die definitive Drehung ein; Alkalisierung für die Ablesung war deshalb nicht nötig.) Die Ansäuerung der Fermentlösung mit dem Azetatgemisch hatte den Zweck, die für die Fermentwirkung günstigste h herzustellen.

Die einzelnen Proben werden dann im Polarisationsapparat untersucht. Die letzte Probe sollte nach 24 Stunden entnommen werden. Der Endwert ist oft noch nicht genau der theoretisch erwartete, weil die Endstadien der Spaltung sehr langsam gehen.

Die zu erwartende Enddrehung kann folgendermaßen berechnet werden. Ist + a die Anfangsdrehung, — b die Enddrehung, so ist $b = 0{,}313 \cdot a$. Die gesamte durchlaufene Drehung ist also $1{,}313 \cdot a$.

Es empfiehlt sich, die Eigendrehung der Fermentlösung in einer Kontrollprobe gleicher Zusammensetzung, aber ohne Zucker, zu bestimmen und als Korrektur für jede einzelne Ablesung abzuziehen. Die Eigendrehung des Ferments ist allerdings sehr gering.

Es ergeben sich z. B. in einem Versuch

Digitized by Google

I	II	III	IV	V
Zeit in Minuten t	Korrigierte Drehung	Drehungsänderung x	$\frac{x}{t} = k_0$	$\frac{1}{t} \cdot \log \frac{a}{a-x} = k$
0	[4,334]	0	—	—
0,5	4,324	0,010	—	—
21,0	3,945	0,389	0,0185	0,00145
60,0	3,260	1,074	0,0179	0,00151
130,0	2,129	2,205	0,0170	0,00164
190,2	1,330	3,004	0,0158	0,00171
246,0	0,744	3,590	0,0146	0,00176

Drücken wir die Zuckermengen also wieder in Graden der Drehungsänderung aus.

Wir stellen nun die Reaktionsordnung fest. Spalte IV gibt die Rechnung für eine lineare Reaktion. Auch hier hat k_0 einen Gang; es fällt mit der Zeit.

Wir rechnen nun die Konstante $k = \frac{1}{t} \cdot \log \frac{a}{a-x}$ aus.

Der Wert a ist gleich der theoretisch erwarteten gesamten erreichbaren Drehungsänderung, also $\cdot 4{,}334\,(1 + 0{,}313) = 5{,}690$. Die Rechnung ist in Spalte V ausgeführt.

Also auch die k-Werte zeigen einen Gang, aber sie steigen mit der Zeit. Um zu sehen, ob das in die Fehlergrenzen fällt, rechnen wir wieder den Mittelwert k_m aus, $= 0{,}001614$, und rechnen auf die früher angegebene Weise $a - x$ zurück. Es ergibt sich

t	a — x berechnet	a — x beobachtet	Differenz zwischen Beobachtung und Berechnung
0	—	5,690	—
21,5	5,167	5,301	+ 0,134
60,0	4,489	4,616	+ 0,127
130,0	3,461	3,485	+ 0,024
190,2	2,766	2,686	— 0,080
246,0	2,248	2,100	— 0,148

Die Differenzen haben einen starken Gang und sind besonders am Anfang und am Ende des Versuchs bestimmt größer als die zu erwartenden Fehlergrenzen. Daß in der Mitte die Abweichungen

Digitized by Google

nur klein sind, liegt daran, daß wir ein mittleres k der Rechnung zugrunde legen. Der Gang der fermentativen Rohrzuckerspaltung ist also nicht mit einer unimonekularen Reaktion zu vereinbaren. Er liegt in der Mitte zwischen einem linearen und logarithmischen Verlauf, ist „infralogarithmisch". Die Deutung dieses Verlaufes kann nicht mehr die Aufgabe dieses Buches sein, auch nicht, diejenige Formel anzugeben, welche diesen Verlauf wirklich wiedergibt.

Logarithmentafel.

(Vgl. dazu S. 21.)

	0	05	1	15	2	25	3	35	4	5	6	7	8	9
1	000	021	041	061	079	097	114	130	146	176	204	230	255	279
		979	*959*	*939*	*921*	*903*	*886*	*870*	*854*	*824*	*796*	*770*	*745*	*721*
2	301	312	322	332	342	352	362	371	386	398	416	431	447	462
	699	*688*	*678*	*668*	*658*	*648*	*638*	*629*	*620*	*602*	*585*	*569*	*553*	*538*
3	477	484	491	498	505	512	519	525	531	544	556	568	580	591
	523	*516*	*509*	*502*	*495*	*488*	*481*	*475*	*469*	*456*	*444*	*432*	*420*	*409*
4	602	607	613	618	623	628	633	638	643	653	663	672	681	690
	398	*393*	*387*	*382*	*377*	*372*	*367*	*362*	*357*	*347*	*337*	*328*	*319*	*310*
5	699	703	708	712	716	720	724	728	732	740	748	756	763	771
	301	*297*	*292*	*288*	*284*	*280*	*276*	*272*	*268*	*260*	*252*	*244*	*237*	*229*
6	778	782	785	789	792	796	799	803	806	813	820	826	833	839
	222	*218*	*215*	*211*	*208*	*204*	*201*	*197*	*194*	*187*	*180*	*174*	*167*	*161*
7	845	848	851	854	857	860	863	866	869	875	881	886	892	898
	155	*152*	*149*	*146*	*143*	*140*	*137*	*134*	*131*	*125*	*119*	*114*	*108*	*102*
8	903	906	908	911	914	916	919	922	924	929	735	940	944	949
	097	*094*	*092*	*089*	*086*	*084*	*081*	*078*	*076*	*071*	*065*	*060*	*056*	*051*
9	954	957	959	961	964	966	968	971	973	978	982	987	991	996
	046	*043*	*041*	*039*	*036*	*034*	*032*	*029*	*027*	*022*	*018*	*013*	*009*	*004*

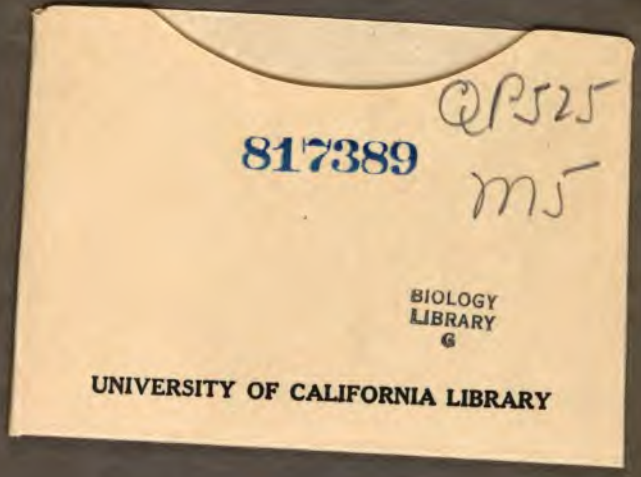
Druck von Breitkopf & Härtel in Leipzig.

Digitized by Google

Digitized by Google

Digitized by Google

YB 65590


817389

QP525
M5

BIOLOGY
LIBRARY
G

UNIVERSITY OF CALIFORNIA LIBRARY

Digitized by Google

Verlag von Julius Springer in Berlin W 9

Einführung in die Mathematik für Biologen und Chemiker

Von Professor Dr. Leonor Michaelis

Mit 96 Textabbildungen. 1913

Preis M. 7.—

Die Wasserstoffionenkonzentration

ıre Bedeutung für die Biologie und die Methoden ihrer Messung

Von Professor Dr. Leonor Michaelis

Mit 41 Textabbildungen. 1914

Preis M. 8.—; gebunden M. 8.80

ildet Band I der „Monographien aus dem Gesamtgebiet der Physiologie der flanzen und der Tiere". Herausgegeben von F. Czapek und J. Parnas.

P_H-Tabellen

nthaltend ausgerechnet die Wasserstoffexponentwerte, die sich aus emessenen Millivoltzahlen bei bestimmten Temperaturen ergeben. Gültig für die gesättigte Kalomel-Elektrode.

Von Dr. Arvo Ylppö

1917. Gebunden Preis M. 3.60

Die physikalisch-chemischen Grundlagen der Biologie

Mit einer Einführung in die Grundbegriffe der höheren Mathematik

Von

Dr. phil. E. Eichwald und Dr. phil. A. Fodor

Ehemaliger Assistent Erster Assistent

am Physiologischen Institut der Universität Halle a. S.

Mit 119 Abbildungen und 2 Tafeln

1919. Preis M. 42.—; gebunden M. 48.—

Hierzu Teuerungszuschläge

Digitized by Google